

EXPERIMENTELLE ÜBERTRAGUNG VON
LEISHMANIEN AUS MENSCHLICHEN INFEKTIONEN
UNTER BESONDERER BEACHTUNG VON
ORGANOTROPIE UND IMMUNITÄT

Ingrid Ackermann

*Oss
München
1985*

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. R. Gothe

Arbeit angefertigt unter Leitung von: Prof. Dr. H.E. Krampitz,
Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität München
(Leiter: Prof. Dr. med. W. Lang)

**Experimentelle Übertragung von Leishmanien aus
menschlichen Infektionen auf den Goldhamster
unter besonderer Beachtung von
Organotropie und Immunität**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Ingrid Ackermann
aus
Heilbronn

München 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. W. Leidl
Referent:	Prof. Dr. R. Gothe
Korreferent:	Prof. Dr. D. O. Schmid

Tag der Promotion: 26. Juli 1985

Für meine lieben Eltern,
Heidi und Mandi

Alles Wissen und alle Vermehrung unseres Wissens endet nicht mit einem Schlußpunkt, sondern mit einem Fragezeichen.

Ein Plus an Wissen bedeutet ein Plus an Fragestellungen, und jede von ihnen wird immer wieder von neuen Fragestellungen abgelöst.

H. Hesse

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung und Problemstellung.....	1
II. Literaturübersicht.....	3
1. Experimentelle Übertragung von Leishmanien auf kleine Versuchstiere.....	3
2. Organotropie menschlicher Leishmanienarten im kleinen Versuchstier.....	8
3. Zelluläre und humorale Immunantwort sowie zellvermittelte Immunität nach Leishmanien- infektion.....	13
III. Eigene Untersuchungen.....	22
1. Material und Methoden.....	22
1.1 Untersuchungen zur Organotropie verschiede- ner Leishmanienarten und -stämmen.....	24
1.1.1 Experimentelle Infektion von Goldhamstern mit <i>L. tropica</i> und <i>L. donovani</i>	24
1.1.2 Intraperitoneale Verabreichung von dermato- tropen Stämmen.....	26
1.1.3 Intrakutane Verabreichung von viszerotropen Stämmen.....	27
1.1.4 Inkubationsversuch mit Normalseren von Mensch, Hund und Hamster.....	28
1.2 Untersuchungen zur Immunisierung.....	31
1.2.1 Immunisierungsversuch <i>L. tropica</i> gegen <i>L.</i> <i>donovani</i>	31
1.2.2 Immunisierungsversuch <i>L. tropica</i> gegen <i>L.</i> <i>tropica</i>	33
1.2.3 Milzzelltransfer von <i>L. tropica</i> -infizierten Goldhamstern auf Empfängertiere und nach- folgende <i>L. tropica</i> -/ <i>L. donovani</i> -Infektion.....	36
1.3 Untersuchungen über Serumantikörper und Infektionsverlauf.....	37

2.	Ergebnisse.....	40
2.1	Ergebnisse der Untersuchungen zur Orga- notropie verschiedener Leishmanienarten und -stämmen.....	40
2.1.1	Experimentelle Infektion von Goldhamstern mit <i>L. tropica</i> und <i>L. donovani</i>	40
2.1.2	Intraperitoneale Verabreichung von dermato- tropen Stämmen.....	44
2.1.3	Intrakutane Verabreichung von viszerotropen Stämmen.....	48
2.1.4	Inkubationsversuch mit Normalseren von Mensch, Hund und Hamster.....	49
2.2	Ergebnisse der Untersuchungen zur Immuni- sierung.....	50
2.2.1	Immunisierungsversuch <i>L. tropica</i> gegen <i>L.</i> <i>donovani</i>	50
2.2.2	Immunisierungsversuch <i>L. tropica</i> gegen <i>L.</i> <i>tropica</i>	60
2.2.3	Milzzelltransfer von <i>L. tropica</i> -infizierten Goldhamstern auf Empfängertiere und nach- folgende <i>L. tropica</i> -/ <i>L. donovani</i> -Infektion..	63
2.3	Ergebnisse der Untersuchungen über Serum- antikörper und Infektionsverlauf.....	66
IV.	Besprechung der Ergebnisse.....	68
V.	Zusammenfassung und Summary.....	69
VI.	Literaturverzeichnis.....	83

I. Einleitung und Problemstellung

Seit Jahren ist die Häufigkeit der Leishmania-Infektionen bei Mensch und Tier in den meisten endemischen Gebieten in ständiger Zunahme begriffen und stellt damit eine der großen Sorgen der Weltgesundheitsorganisation dar. Diese Zunahme spiegelt sich auch in den Ergebnissen der Serodiagnostik von Mensch und Hund im Rahmen der Tropen- und Touristikmedizin am Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der Universität München wider.

Leishmanien treten in Vertebraten als zweikernige, amastigote, 2-5 μm durchmessende Protozoen der Familie Trypanosomatidae auf, die als obligate Zellparasiten im Lymphoid-Makrophagensystem leben, sich dort durch Zweiteilung vermehren und von weiblichen Kleinmücken der Familie Phlebotomatidae (Schmetterlings- oder Hundsmücken) beim Saugakt übertragen werden (Abb. 1).



Abb. 1: Mit Leishmanien beladene Wirtszelle (KRAMPITZ, 1979)

Aufgrund des komplexen Immungeschehens konnte bisher noch kein Immunschutz von Mensch und Tier gegen Leishmania-Infektionen entwickelt werden. Hierzu wären noch viele Teilmechanismen weiter aufzuklären; zur Erforschung von Immunmechanismen hat die kontrollierte Infektion von geeigneten Versuchstieren in Vergangenheit und Gegenwart ihren festen Stellenwert bewiesen.

Ziel der vorliegenden Untersuchungen ist es, das biologische Verhalten von aus dem Menschen isolierten *L. tropica* (5)- und *L. donovani* (3)-Stämmen in experimentell infizierten Goldhamstern zu analysieren. Es sollte außerdem geklärt werden, ob sich nach experimenteller Infektion zwischen den beiden Leishmania-Spezies *L. tropica* und *L. donovani* eine Kreuzimmunität ausbildet, ob nach homologer Reinfektion mit *L. tropica* eine lokale Immunität erreicht werden kann, und ob die sich möglicherweise entwickelnde protektive Immunität durch Milzzelltransfer zu übertragen ist. Schließlich ist zu untersuchen, ob die vom Goldhamster im Verlauf einer Infektion mit *L. tropica* und *L. donovani* gebildeten Antikörper im indirekten Immunfluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT) zu messen sind.

II. Literaturübersicht

1. Experimentelle Übertragung von Leishmanien auf kleine Versuchstiere

Zahlreiche Tierspezies wie Gerbils, Ratten und andere Nager und verschiedene Karnivoren (Haushund, Fuchs und Schakal) können durch Leishmanien natürlich infiziert werden (HOMMEL, 1978).

Man findet alle Abstufungen im Schweregrad der Infektion von der generalisierten Form beim Hund - verursacht durch *L. donovani* als lebensbedrohliche Krankheit mit Fieber, Anämie, Hepatosplenomegalie, diffusem Haarausfall, Hautulzerationen und terminaler Kachexie einhergehend - bis zum symptomlosen Verlauf beim Schakal.

Trotz einer ständig wachsenden Zahl von Tierarten, die sich auf natürlichem Weg mit Leishmanienspezies infizierten, scheint das experimentelle Nagetierspektrum für Leishmanien noch breiter als das der natürlich infizierten wildlebenden Kleinsäuger:

Die Ursache ist darin zu suchen, daß die Kleinmücken der Gattung *Phlebotomus* (Sandfliegen, Gnitzen, Schmetterlings- oder Hundsmücken) als wärmeliebende Zwischenwirte vorwiegend gesellig lebende, in hoher Flächendichte auftretende Kleinsäugetiere befallen; so sind z.B. die bodenbewohnenden Vertreter der Familie Gerbillidae, nicht dagegen der Goldhamster als Einzelgänger gefährdet.

HERRER et al. (1971) bestätigten diese Tatsache, da von 148 in tropischen Waldgebieten von Panama ausgesetzten Goldhamstern nur bei einem Tier nach dem Phlebotomenstich Leishmanienvorverdacht bestand. In Uta (Peru) wurde der Versuch mit 58 Goldhamstern über einen verlängerten Zeitraum von 2 Jahren wiederholt, wobei HERRER (1983) im Ohr- und Gliedmaßenbereich von 12 Tieren den Nachweis von Amastigoten erbrachte.

Erfolgreiche Versuche, Erreger der Orientbeule des Menschen auf Labormäuse zu übertragen, gehen bis in das Jahr 1913 zurück. Erstmals war es GONDER (1913) gelungen, *L. tropica* in Mäusen zur Vermehrung zu bringen und nach intravenöser sowie intraperitonealer Gabe von *L. tropica*-Kulturen eine "Generalisierung", wie er formulierte, zu erreichen. Treffender wäre wohl der Begriff der Viszeralisation, da der Autor von einem spontanen Befall der Viszera mit zugeordneter Symptomatik (Kachexie, Hepatosplenomegalie) berichtete. Diese Beobachtung, die großen theoretischen Wert besitzt, wurde lange Zeit nicht systematisch weiterverfolgt.

In den folgenden Jahrzehnten griffen zahlreiche Autoren das Mäuseexperiment in der *Leishmania*-Forschung auf (LAVERAN, 1914, 1915; SERGENT, 1915; ROW, 1914, 1925). Nach dem Vorschlag von PARROT und DONATIEN (1927) wiesen erstmals MAYER et al. (1934) orientbeulenartige Erscheinungen bei Labormäusen nach, die mit Kulturmateriel von *L. tropica* in die Schwanzwurzel infiziert wurden.

Im Anschluß an diese Beobachtungen gewann die Labormaus als geeignetes Studienobjekt im künstlichen Wirt-Parasitensystem zunehmend an Bedeutung (STAUBER, 1973). Die Suche nach einem standardisierten Mäusematerial, das dem humanen Phänomen gleichkommende Krankheitsbilder erzeugt, ging weiter.

Seit dem letzten Jahrzehnt wird vermehrt mit ingezüchteten Mäusestämmen gearbeitet, die BJORVATN und NEVA (1979) für experimentelle Studien besonders geeignet erschienen, da deutliche stammspezifische Empfänglichkeitsunterschiede bestehen. Die resistenten oder empfänglichen phänotypischen Reaktionen verschiedener Mäusestämmen auf den Erreger machten es möglich, genetische Studien bei *Leishmanieninfektionen* der Labormaus zu betreiben. In Berichten faßten BRADLEY (1982), GORCZYNSKI (1982) sowie HOWARD et al. (1982) übereinstimmend zusammen, daß ein einziges autosomales Gen einen entscheidenden Einfluß auf die Empfänglichkeit von Mäusen für *Leishmanieninfektionen* ausübt.

Die Verabreichung von *L. tropica* in die Haut von Mäusen verursacht ein Ulkus, das sich in Abhängigkeit vom Mäusestamm sehr unterschiedlich entwickelt (BEHIN et al., 1979). Die initiale ulzerative Phase scheint bei allen untersuchten Stämmen ähnlich, die regressive Phase und Heilphase jedoch vom Genbestand des Tieres abhängig. Während das oberflächliche Hautulkus bei CBA-Mäusen in wenigen Monaten abheilt, entwickeln Balb/c-Mäuse ausgedehnte, nicht heilende Ulzera und bleiben lebenslang infiziert (PRESTON und DUMONDE, 1976). Im Gegensatz zur kutanen Infektion bei Mäusen mit Selbstheilung tritt bei Tieren ohne Heilung in der späteren Infektionsphase die Generalisierung mit dramatischem Verlauf ein (WEINTRAUB und WEINBAUM, 1977; NASSERI und MODABBER, 1979; PACK-CHANIAN, 1979). Auch nach der Infektion von 25 ingezüchteten Mäusestämmen mit einem *L. donovani*-Stamm äthiopischer Herkunft fand BRADLEY (1974, 1977) bei den Tieren ausgeprägte stammspezifische Empfänglichkeitsunterschiede. Mit den ingezüchteten Mäusestämmen, insbesondere der weißen Mausinzuchtlinie Balb/c, die ein geeignetes Modell zum Studium des menschlichen Kala-azar darstellt, wurde ein standardisiertes, für die Leishmania-Forschung wertvolles Tiermaterial gefunden.

Seit der Entdeckung von *L. enrietti* in einer Spontaninfektion des Meerschweinchens in Brasilien stellt diese Wirt-Parasitenkombination ein geeignetes Modell für die kutane Leishmaniasis des Menschen dar (BRYCESON et al., 1970). Nach subkutaner Infektion entwickelt sich ein der Orientbeule ähnlicher Hautulkus, das nach 3 - 4 Monaten abheilt und im Tier eine fortdauernde Immunität erzeugt. Nach Verabreichung einer hohen Erregerdosis ist eine generalisierte Hautleishmaniasis mit Ulzerationen am Ort der Zweitansiedlung zu beobachten; aufgrund allergisch-entzündlicher Reaktionen scheint das Tier unfähig, eine schützende Immunität zu erzeugen.

Mit ihren Versuchen am chinesischen Zwerghamster (*Cricetulus griseus*) lenkten SMYLY und YOUNG (1924) erstmals die Aufmerksamkeit auf die hamsterartigen Nagetiere als Experimentalwirte, insbeson-

dere für *L. donovani*. MAYER (1926) wies darauf hin, daß der einheimische Großhamster (*Cricetus cricetus*) für die experimentelle Infektion gleichermaßen geeignet sei. Mit der Domestikation und Einführung des syrischen Goldhamsters (*Mesocricetus auratus*) in die Leishmania-Forschung gelang ADLER und THEODOR (1931) der entscheidende Durchbruch bei der in vivo-Passagehaltung des Parasiten.

Die Meinungen über den Wert des Goldhamsters als Tiermodell gingen von jeher stark auseinander. Während FRENKEL (1972) den Goldhamster als großen Gewinn für die in vivo-Haltung von Leishmanien, chemotherapeutischen Studien und Immunitätsuntersuchungen ansah, bezeichnete ZUCKERMAN (1975) das Tier aufgrund seiner artspezifischen Immunantwort als "living test tube"; keinesfalls sei es ein für den Menschen repräsentatives Labormodell.

Der Goldhamster erwies sich für verschiedene Leishmanienspezies als empfänglich einschließlich mehrerer südamerikanischer Spezies, wie WILSON et al. (1979) berichteten, ebenso für den als besonders wirtsspezifisch geltenden Erreger *L. enrietti* (BELEHU und TURK, 1976). In frühen Studien verwendeten STAUBER (1966) und OTT et al. (1967) den Hamster als Wirt für den Erreger *L. donovani*, der bei intraperitonealer und intrakardialer Infektionsroute eine fulminante viszerale Infektion verursacht. Als primäre Zielorgane ermittelten die Autoren Milz, Leber und Knochenmark, wobei das erstgenannte Organ am stärksten befallen war. In einem standardisierten Verfahren inokulierten SCHNUR et al. (1973) gleiche Mengen Promastigoten von *L. tropica* und *L. donovani* in die Milz, worauf sich nachvollziehbare und leicht unterscheidbare Verteilungsmuster ergaben. Die Infektion mit einem *L. tropica*-Stamm aus Israel führte zu umfangreichen Ulzerationen an den Körperakren, zu einer Vergrößerung und Stauung von den in engem Kontakt zur Haut stehenden Organen, wie Hoden und Nebenhoden, sowie vereinzelt zu milden oder kryptogenen Infektionen der tiefen Viszera Milz und Leber. Milz, Leber und Knochenmark, seltener Axillarlymphknoten, Nebenniere, Lunge, Niere, Thymus und Zwerchfell erwiesen sich als

Zielorgane eines indischen *L. donovani*-Stammes.

Von allen Arten kleiner Labortiere scheint der Goldhamster für die Erstisolierung und die fortlaufende Passagehaltung von Leishmanien-Stämmen bis heute noch immer am geeignetsten.

Bereits STAUBER (1955, 1958 b, 1966) setzte ein Standardsystem zur Messung des Parasitenwachstums von *L. donovani* beim Hamster fest und überprüfte damit die Empfänglichkeit verschiedener Tierspezies. Die Ergebnisse dieser Vergleichsstudie vermittelten eine deutliche Variationsbreite in den Wirtsantworten auf *L. donovani*. Während die Infektion für Chinchilla (*Chinchilla lanigera*) und Weißschwanzratte (*Myiostomys albicaudatus*) tödlich verlief, erwiesen sich die Laborratte, das Kaninchen und das Meerschweinchen als resistent. Die Baumwollratte (*Sigmodon hispidus*), die schon FULTON et al. (1950) viszeral infizierten, überlebte trotz starker Parasitenvermehrung, ohne äußere Anzeichen einer Infektion zu zeigen.

Bei europäischen, bodenbewohnenden Wildnagetierarten blieb bis vor kurzem die Eignung als Experimentalwirt für Leishmanien unerforscht. Nun beschrieb KRAUSE (1976) in seinen Untersuchungen die einheimische Rötel- oder Waldwühlmaus (*Clethrionomys glareolus*) als besonders geeigneten und dem Goldhamster ebenbürtigen Wirt für *L. donovani*.

Trotz der jahrzehntelangen Bemühungen, ein allgemein gültiges Tiermodell für alle *Leishmania*-Infektionen zu finden, ist dies nicht festzulegen, da jeder Experimentalwirt je nach Tierart, Erregerspezies, Infektionsweg und -dosis etc. verschieden auf den intrazellulären Parasitenbefall reagiert. Doch vermögen die bisher ermittelten Experimentalmodelle die Verknüpfung von bestimmten klinischen Formen der Infektion mit den wohldefinierten immunologischen Antworten, die unter genetischer Kontrolle stehen, zu verdeutlichen.

2. Organotropie menschlicher Leishmanienarten im kleinen Versuchstier

Die Frage nach dem Gewebstropismus verschiedener Erregerarten und -stämme ist mit dem gegenwärtig stark umstrittenen Problemkomplex der Artbestimmung der Parasiten eng verknüpft. Bereits ROW (1924/25), der Labormäusen die Erreger *L. donovani* und *L. tropica* intraperitoneal injizierte und in beiden Fällen generalisierte Infektionen nachwies, suchte nach einer Unterscheidungsmöglichkeit zwischen beiden Erregerarten.

Lange Zeit erfolgte die Artunterscheidung und -benennung innerhalb der Gattung *Leishmania* nach klinisch-pathologischen Kriterien bei Mensch und Tier. Bereits ADLER (1964) erkannte die Schwächen dieser Taxonomie, ebenso forderten GARNHAM (1971) und ZUCKERMAN (1975) eine numerische Analyse aller geltenden Marker als "Fingerabdruck" einer bestimmten Leishmanienspezies, um sich von der wirtsorientierten Reaktion zu lösen.

Vermehrt stößt man auf Bemühungen, die Möglichkeiten der Klassifizierung anhand morphologischer Studien zu erweitern. KIRK (1950) stellte in Untersuchungen die einheitliche Gestalt verschiedener Leishmanienarten bei Mensch und Hund heraus. Gleichermaßen wurde von GARNHAM (1971) die bemerkenswerte Ähnlichkeit aller Leishmanienspezies in amastigoter und promastigoter Erscheinungsform bestätigt. Demgegenüber stehen die Untersuchungen von GARDENER et al. (1977), der der vergleichenden Morphometrie aufgrund ermittelter Größenunterschiede Wert beimaß. In jüngerer Zeit kamen VERESS et al. (1980) und MEHLHORN et al. (1984) in elektronenmikroskopischen und morphometrischen Studien zu dem Ergebnis, daß keine signifikanten morphologischen Speziesunterschiede bestehen.

Von LUMSDEN (1974) wurde eine Klassifikation vorgeschlagen, die nicht nur morphologische, chemische (Isoenzymmuster) und immunologische (Serotypen) Kriterien des Erregers, sondern auch das Verhalten in Labortieren, Vektoren und Kulturmedien sowie die hervor-

gerufenen klinischen Symptome im Menschen berücksichtigt. Die Ausführungen von SAFYANOVA (1977) unterstrichen die Bedeutung aller wirtsinduzierten biologischen Merkmale, die die Leishmanienspezies gegeneinander abgrenzen, in der Problematik der Klassifikation. Es schlossen sich weitere Arbeiten über biophysikalisch-respirometrische sowie elektrophoretische Isoenzymbestimmungen und Antigenaufschlüsselungen an, die das breite Spektrum an spezifischen Stammvarianten *in vitro* bestätigten, jedoch das Problem der Nomenklatur keineswegs zu lösen vermochten (GARDENER et al., 1974; SCHNUR et al., 1981).

Im Anschluß an die Ausführungen von LANOTTE et al. (1981) und ABDALLA (1982), die eine strenge Trennung in *L. donovani*, als Erreger der Viszeralleishmaniasis, und *L. tropica*, als Erreger der altweltlichen Hautleishmaniasis, ablehnten, wurde von der WHO (1983) eine neue Differenzierung angegeben (Tab. 1).

Spezies	Erkrankung
<i>L. major</i> (früher <i>L. tropica major</i>)	SCL
<i>L. tropica</i> (früher <i>L. tropica minor</i>)	SCL, LR, VL
<i>L. aethiopica</i>	SCL, DCL, MCL
<i>Leishmania</i> sp.	SCL
<i>L. donovani</i> (<i>L. d. donovani</i> , Indien)	VL, PKDL
(<i>L. d. donovani</i> , China)	VL, PKDL
(<i>L. d. donovani</i> , Ostafrika)	SCL, VL, PKDL
(<i>L. d. donovani</i> , Sudan)	SCL, VL, ONL
(<i>L. d. infantum</i> , Mittelmeerraum)	SCL, VL

Tab. 1: WHO - Leishmania-Spezies und Subspezies der "Alten Welt" und die verursachten Erkrankungen
SCL = Simple cutaneous leishmaniasis; LR = Leishmaniasis recidivans; VL = Visceral leishmaniasis; DCL = Diffuse cutaneous leishmaniasis; PKDL = Post kala-azar dermal leishmaniasis; ONL = Oro-nasal leishmaniasis; MCL = Mucocutaneous leishmaniasis

Als Bestätigung für die Feststellung von PETERS (1977), daß eine systematische Gruppierung innerhalb der Gattung *Leishmania* nicht als starres Gefüge anzusehen ist, findet man in der kasuistischen Literatur bei Mensch und Tier eine Anzahl von Beispielen.

Nach den Befunden beim Menschen von MANSON-BAHR (1973) kann der Erreger der viszeralen Leishmaniasis am Hautorgan eine Primärreaktion ausbilden und als Post-Kala-azar-Leishmanoid in der Spätphase der Infektion in die Haut zurückkehren. Wie aus der "Alten Welt" Schleimhautlokalisationen von *L. tropica* bekannt wurden, beschrieb dagegen ABDALLA (1982) im Sudan eine durch *L. donovani* verursachte mukokutane Leishmanieninfektion.

Bei der künstlichen Übertragung von Leishmanien auf Versuchstiere stellten bereits MAYER et al. (1934) nach der 4. Schwanzwurzelpassage von *L. tropica* in den inneren Organen der Labormaus Parasiten fest. Der Erreger verhielt sich demnach im Versuchstier anders als im Menschen. Erstmals berichteten CHUNG und WANG (1939), zit. in MAEKELT (1972), daß die intraperitoneale Infektion von im Menschen hautbewohnenden Leishmanien im Hamster zur Besiedlung der Viszera führte. Diesen als "Viszeralisation" bezeichneten Prozeß konnten ADLER und ZUCKERMAN (1948) sowie MATA et al. (1968), zit. in MAEKELT (1972), experimentell bestätigen.

Anhand des Erregerstammes *L. donovani* "O." aus Malta, der aus Hautulzera eines Patienten isoliert wurde und im Goldhamster "viszeralisierte", vertraten auch KRAMPITZ et al. (1977) die Meinung, im Tierversuch könne die Organbevorzugung von der des Menschen abweichen. Das wirtsinduzierte Erregerverhalten des Maltastammes bestätigte WEBER (1977) in Versuchen mit der Rötelmaus, bei der nach intraperitonealer Infektion eine späte disseminierte Massenbesiedlung der Haut unter Fortbestand der viszeralen Parasitenvermehrung auftrat, während der Goldhamster ausschließlich viszeral erkrankte.

Demzufolge sind der eingedrungene Parasit, seine Organotropie und sein pathogenes Potential nicht allein für das Schicksal der Leishmanieninfektion verantwortlich, sondern wird vom befallenen

Organismus und seiner immunologischen Abwehr- und Kontrollpotenz mitbestimmt.

Der unterschiedliche Gewebstropismus verschiedener Leishmanienspezies bleibt bis heute unerforscht, wenn auch immer wieder Vermutungen zu dessen Beeinflussung angestellt wurden.

Eine umfangreiche tierexperimentelle Literatur behandelte den direkten Einfluß der Umgebungstemperatur auf die Verbreitung des Parasiten und die Ausprägung klinischer Erscheinungsbilder. Man stößt auf die Annahme, daß der Dualismus in der topischen Spezifität, wie er sich in der Dermato- und Viszerotropie darstellt, auf unterschiedliche Temperaturpräferenzen der einzelnen Erregerarten zurückzuführen ist. Wie BERMAN und NEVA (1981) in *in vitro*-Versuchen beweisen konnten, vermehrten sich Amastigote von *L. tropica major* bei 35° C wesentlich rascher als bei einer Temperatur von 37° C und werden bei 39° C beinahe vollständig eliminiert, *L. donovani*-Amastigote dagegen zeigten bei den verschieden hohen Temperaturen eine gleich starke Vermehrungsaktivität; nur 40 % der Parasiten wurden bei 39° C eliminiert.

Die Untersuchungen von STAUBER (1963), HAYATEE (1970) und SCHEFFER (1980) ergaben, daß im Versuchstier der zeitliche Verlauf und das Ausmaß einer experimentellen Haut- oder Viszeralleishmaniasis durch verschiedene Umgebungstemperaturen zu beeinflussen war. Konstant unphysiologisch hohe Temperaturen von über 30° C wirkten sich auf die Pathogenese bremsend aus, wohingegen tiefere Temperaturen protrahierte, nicht oder spät heilende Hautläsionen erzeugten.

Seit Jahrzehnten setzten sich mehrere Autoren mit der Problematik der Beeinflussung von pro- und amastigoten Leishmanienformen und deren topischer Präferenz durch Serum verschiedener Spezies auseinander. Wie bereits TAUB (1956) nachwies, übten menschliche Normalseren einen lytischen Effekt auf Promastigote von *L. donovani infantum* aus. Auch frische Seren erwachsener Kaninchen, Meeresschweinchen und Ratten enthielten einen Faktor, der die flagelläre Immobilisation von Promastigoten bewirkte (ULRICH et al., 1968).

Serum verschiedener Labortierspezies zeigten, wie SCHMUNIS und HERMAN (1970) beschrieben, einen unterschiedlich stark ausgeprägten lytischen Effekt auf Promastigote von *L. brasiliensis*, *L. donovani* und *L. tropica*. Diese Untersuchung führten REZAI et al. (1973) fort, indem sie die Serumaktivität gegen *L. enrietti* und *L. tropica* zu quantifizieren versuchten. Die Autoren äußerten die Vermutung, daß der gegen Leishmanien gerichtete Faktor eine Antwort auf einen unspezifischen Antigenstimulus, an dem auch die Kulturformen der Leishmanienspezies teilhaben, darstellt.

Auch in einem indirekten Blutinkubationstest (blood-incubation-infectivity-test), mit dem Subspezies von *Trypanosoma brucei* anhand der Resistenz gegen den cytotoxischen Effekt von Normalseren identifiziert werden konnten, nutzten RICKMAN und ROBSON (1970) den Serumeinfluß auf Parasiten aus.

In jüngerer Zeit hat die in vitro-Analyse der Wirkung von nicht immunem Serum als wichtiger Schritt im Studium der Wirtsdefensive gegen *L. donovani* an Bedeutung gewonnen. PEARSON und STEIGBIGEL (1980) wiesen den letalen Effekt frischer Menschenserum für promastigote, nicht dagegen für amastigote Formen von *L. donovani* nach und brachten ihn mit der Aktivierung des "C membrane attack complex", einem aus Komplementkomponenten gebildeten Proteinkomplex, über den klassischen Komplement (C)-Aktivierungsweg (MÜLLER-PEDDINGHAUS, 1983) unter Bindung von Ig G und Ig M an Promastigote in Verbindung. In der Meinung über die Rolle der Antikörper schlossen sich PEARSON und STEIGBIGEL (1980) den Voruntersuchern REZAI et al. (1973) an und zogen die Anwesenheit von "natürlichen" oder kreuzreagierenden Antikörpern in Betracht, die im Zusammenspiel mit Komplement infektiöse promastigote Formen von *L. donovani* auslöschen. PEARSON und STEIGBIGEL (1980) versuchten, die fehlende Wirkung von Serum auf Amastigote mit den von DWYER (1976) ermittelten antigenetischen Unterschieden der beiden Formen zu erklären; auch die Unempfindlichkeit Amastigoter für den "membrane attack complex" sowie das die Amastigoten umgebende Milzmaterial des Hamsters wurden als mögliche Ursachen in Betracht gezogen. Das Serum bleibt somit in seiner Bedeutung als potentielle Wirts-

defensive gegen *L. donovani* unklar, liefert jedoch eine wichtige, aber unvollständige Barriere gegen die Parasiteninvasion.

Weitere Untersuchungen von HOOVER et al. (1984) mit Amastigoten ergaben, daß menschliche Normalseren über den alternativen Weg der Komplement (C)-Aktivierung in Form eines antikörperunabhängigen, komplementabhängigen humoralen Mechanismus einen cytotoxischen Effekt auf Amastigote von *L. tropica* ausüben, während sich *L. donovani* als 10-fach weniger empfänglich erweist.

Der Unterschied in der Empfänglichkeit von *L. tropica* und *L. donovani* für die serumvermittelte Parasitenauslöschung kann zur Erklärung der Pathogenese von Leishmanieninfektionen beitragen. Während *L. tropica*, eine gegen normales Menschenserum hochempfindliche Erregerspezies, auf den Ort des Sandfliegenstichs beschränkt bleibt und hier eine tiefe, ulzerierende Hautläsion setzt, metastasiert der Parasit *L. donovani*, der von Serumkomplementfaktoren nicht beeinträchtigt wird, vom Inokulationsort in die Viszera und ruft die lebensbedrohliche Erkrankung hervor.

3. Zelluläre und humorale Immunantwort sowie zellvermittelte Immunität nach Leishmanieninfektion

Die Immunforschung an Parasiteninfektionen beschränkte sich lange Zeit auf die Entwicklung serodiagnostischer Techniken. So nützlich diese auch sein mögen, vermitteln sie doch wenig Einblick in das Verständnis von Immunreaktionen, deren Ergebnis die schützende (protektive) Immunität ist. Einhergehend mit dem ständig wachsenden Interesse für Immunphänomene, den fortentwickelten immunologischen Arbeitsmethoden und der beinahe unüberschaubar gewordenen Literatur, lenken die Leishmanien als parasitische Protozoen mit obligatorischer Ansiedlung und Vermehrung in immunkompetenten Zellen heute große Aufmerksamkeit auf sich.

Im Rahmen der Immunologie von Infektionskrankheiten ist die Immunantwort keinesfalls mit einer schützenden Immunität - d.h. der

im Laufe des Lebens aktiv oder passiv erworbenen spezifischen Abwehrkraft eines Organismus gegenüber antigen wirksamen Substanzen (ROLLE und MAYR, 1978) - gleichzusetzen. Die protektive Immunität setzt bestimmte Mechanismen voraus, mit denen die humoral, zellulär oder kombiniert vermittelte Immunantwort ihre schützende Wirkung ausübt (MAUEL und BEHN, 1974).

Um die komplexen, im Menschen ausgelösten, immunologischen Reaktionen zu entschlüsseln, bleibt der Tierversuch ein unentbehrliches Mittel, obwohl viele Ergebnisse sicherlich keinen Einblick in die menschliche Krankheitssituation geben können, und eine Beziehung zwischen der Infektion des Labortieres und der korrespondierenden Erkrankung des Menschen oft schwer zu beurteilen ist.

Ähnliche Krankheitserscheinungen wie bei der selbstheilenden kutanen Leishmaniasis des Menschen mit ausgeprägter zellvermittelter Reaktivität auf das Parasitenantigen, die sich in einer stark verzögerten Hypersensibilitätsreaktion in vivo (ZUCKERMAN, 1975) widerspiegelt und im Wirt eine langandauernde Immunität gegen die Reinfektion erzeugt (HEYNEMAN, 1971), zeigen zwei Tiermodelle, das Meerschweinchen und der ingezüchtete CBA-Mäusestamm.

Erstmals wurde die Bedeutung von zellvermittelten Immunmechanismen in Studien mit *L. enrietti* vermutet, einem Pathogen, das niedrig dosiert beim Meerschweinchen spontanheilende Hautulzera verursacht. Obwohl spezifische Antikörper während der Infektion auftraten, führten sie nicht zur Auflösung der Ulzera. Die Abheilung war mit einer verzögerten Hypersensibilitätsreaktion sowie in vitro mit der proliferativen Reaktion von Lymphozyten verbunden. Die Unterdrückung der zellvermittelten Immunantwort mit Anti-Lymphozytenserum führte zu ausgedehnten Primärläsionen und temporärer metastatischer Ausbreitung, eine Beobachtung, die die wichtige Rolle der Lymphozyten bei der Kontrolle der Leishmanieninfektion beim Meerschweinchen hervorhebt (BRYCESON und TURK, 1971; BRYCESON et al., 1972).

Zudem gelang es dem Autor und seinen Mitarbeitern, die protektive Immunität des Meerschweinchens mit Lymphozyten zu übertragen, bei

der Orientbeule des Menschen dagegen schlug dieser Versuch bisher fehl.

Später studierten PRESTON et al. (1972) die Rolle der zellvermittelten Immunität in einem zweiten gültigen Tiermodell für die menschliche Hautleishmaniasis, in dem CBA-Mäuse (eine wildfarbene Mausinzuchtlinie) mit dem menschlichen Pathogen *L. tropica* infiziert wurden. Versuche mit thymektomierten und bestrahlten Mäusen machten die Notwendigkeit eines intakten T-Zellsystems bei der Abheilung kutaner Ulzera deutlich. Wie die Autoren berichteten, war es möglich, mit Lymphoidzellen, Peritonealexsudat, Milz oder Lymphknoten geheilter CBA-Mäuse den Schutz auf syngenetische Empfängertiere, die mit *L. tropica* herausgefordert wurden, zu übertragen. Zwar zeigte Serum von geheilten Mäusen allein keine schützende Wirkung, erhöhte jedoch die Wirkung der Lymphoidzellen.

Der direkte Beweis der entscheidenden Rolle der T-Lymphozyten bei der Immunität gegen *Leishmania* leitet sich aus dem Nachweis von HANDMAN et al. (1979) ab, daß thymuslose Nacktmäuse (nu/nu-Mäuse) eine generalisierte und fatale Krankheit auf die Infektion mit *L. tropica* entwickeln, und daß der Transfer von syngenetischen T-Zellen bei empfänglichen nu/nu-Mäusen eine Immunität induziert (MITCHELL et al., 1980). Wie auch REZAI et al. (1980) später in Zelltransfer-Versuchen bestätigten, wird die Immunität gegen *L. donovani* durch thymusabhängige Lymphozyten vermittelt, während Immunserum allein keine Immunität in den Empfängertieren induzieren kann.

In jüngster Zeit wurden in vitro homogene Populationen von T-Lymphozyten, spezifisch für *L. tropica*-Antigene, erzeugt, deren Leishmanien-induzierte Aktivierung und Proliferation gemessen und die Funktion analysiert (LOUIS et al., 1982). In vitro-Versuche zur funktionellen Analyse von Mäuse-T-Lymphozyten ergaben, daß *L. tropica*-spezifische T-Zellen eine Helferaktivität bei der humoralen Antwort besitzen, gleichermaßen die antigenspezifische verzögerte Hypersensibilität auf syngenetische, normale Empfängertiere zu übertragen vermögen.

Mehrere Autoren versuchten mit Lymphknoten- und Milzzellen die Helferwirkung von T-Lymphozyten bei der Immunantwort auf Empfängertiere zu übertragen.

Nach RUEBUSH und HANSON (1980) entwickelten Lymphknoten- und Milzzellen von NMRI-Mäusen, die mit *Babesia microti* menschlichen Ursprungs infiziert wurden, die Fähigkeit, die adoptive Immunität auf thymektomierte, bestrahlte Balb/c Mäuse nach intravenöser Injektion zu transferieren.

Auch ZIVKOVIC et al. (1984) gelang die Immunitätsübertragung mit Milzzellen von gegen *B. rodhaini* immunen Balb/c-Mäusen, die sie nach der Reinigung und Quantifizierung auf mit Cyclophosphamid vorbehandelte Empfängertiere intraperitoneal verimpften. Wie Bestrahlungsversuche an Empfängertieren zeigten, spielen Makrophagen und T-Lymphozyten für den vollständigen Schutz die größte Rolle.

Aufgrund von in vitro-Versuchen sahen HANDMAN et al. (1979), CHANG und CHIAO (1981) sowie HAIDARIS und BONVENTRE (1981) die Zerstörung intrazellulärer Leishmanien durch aktivierte Makrophagen als den bedeutendsten Mechanismus an, um die Parasiten aus dem infizierten Wirt zu eliminieren. Die Möglichkeit, daß *L. tropica* major-spezifische T-Zellen nach Antigenkontakt Lymphokine freisetzen, die infizierte Makrophagen aktivieren, den Parasiten zu zerstören, wurde im Versuch von LOUIS et al. (1982) überprüft und bestätigt.

Gegenwärtige in vitro-Studien versuchen, den Funktionsmechanismus der parasitenspezifischen T-Zellen im Heilungsprozeß und bei der Entwicklung einer schützenden Immunität aufzuklären.

Der von ALEXANDER und PHILLIPS (1980) beschriebene Transfer von Lymphozyten aus NIH-Mäusen, die mit *L. tropica* infiziert waren, veränderte den Verlauf der nachfolgenden *L. tropica*- bzw. *L. mexicana*-Infektion im Empfängertier. Nach der Herausforderung mit *L. mexicana* stellten die Autoren die Immunität als partielle Hemmung des Parasitenwachstums fest. Da die Kontrolle der Infektion durch gemischte Lymphozyten wirkungsvoller als durch ange-

reicherte T-Lymphozyten schien, folgerten die Autoren, daß die B-Lymphozyten und die humorale Antwort bei der Ausbildung der Immunität eine Rolle spielen. Mäuse, die Lymphozyten von Spender-tieren mit in der Abheilung begriffenen Läsionen erhielten und anschließend mit *L. tropica* herausgefordert wurden, zeigten stärkere Läsionen und eine verzögerte Heilung, wohingegen nach Lymphozytentransfer von Tieren mit vollständig abgeheilten Läsionen nur kleine, nicht ulzerierende Läsionen auftraten.

Wie bereits DOSTROVSKY (1952) erkannte, bildete der Mensch keine Immunität gegen *L. tropica* aus, bevor die Primärläsion nicht abgeheilt war. An die Stelle der nicht abgeheilten Primärläsion gesetzte Läsionen wuchsen schneller, ulzerierten und heilten simultan mit der Erstinfektion. Was die Möglichkeit einer gleichartigen Reinfektion nach Überstandener Hautleishmaniasis beim Menschen anbelangt, führt die Überwindung der Erkrankung zu einer beschränkten Immunität. Menschen, die an einer Hautleishmaniasis erkrankt waren, reinfizierte KELLINA (1967) artifiziell mit Kulturmateriel von *L. tropica*. Stämme mit geringer Virulenz hatten keine Gewebsveränderung zur Folge, während hochvirulente Stämme die Abwehrschanke durchbrachen und ulzerierende Knötchen unter Parasitenvermehrung hervorriefen. Demgegenüber fanden ADLER und ZUCKERMAN (1948) beim Hamster, daß mit einem nicht infektiösen *L. tropica*-Stamm infizierte Tiere keine Immunität gegen infektiöse Hautstämme ausbildeten. PRESTON und DUMONDE (1976) beschäftigten sich mit dieser Frage am Infektionsmodell der Labormaus. Abgesehen von sehr hohen Reinfektionsdosen mit Kulturformen von *L. tropica* entwickelte sich eine Immunität gegenüber der Reinfektion. Allerdings gibt es keinen tierexperimentellen Beweis, daß eine durchgemachte Hautleishmaniasis eine lebenslange stabile Immunität gegenüber der Reinfektion erzeugt.

Die Bedeutung des Goldhamsters, dem Versuchstier der Wahl zur Stammissolierung und Stammhaltung, im Immungeschehen ist vorsichtig zu beurteilen. Nach jahrzehntelangen Forschungen gelangte ADLER (1965) zu der Meinung, der Goldhamster könne keine wirksame Immunität entwickeln, unabhängig von der Virulenz des verabfolgten

Leishmanienstammes. Auch STAUBER (1955) vertrat diese Meinung, als mehrere Versuche zum Nachweis einer Immunität gegen die Superinfektion mit virulenten Erregerstämmen und zur Immunisierung gegen *L. donovani* mit abgetöteten Parasiten mißlangen.

Der einzige Beweis, der die erworbene Immunität unterstützt, ist die von CORRADETTI (1977) durchgeführte Immunisierung mit bestrahlten *L. donovani*-Erregern. Auch konnte das Experiment, in dem FARRELL (1976) Hamster subkutan mit *L. donovani* infizierte und nach 6 Wochen intrakardial mit demselben Stamm herausforderte, die Parasitenmenge in den Viszera limitieren. Die Immunisierung des Goldhamsters mit niedrigen Dosen lebenden Antigens befindet sich noch im Versuchsstadium. SCHNUR (1976) versuchte, syrische Hamster mit einem israelischen Stamm von *L. tropica*-Promastigoten intraperitoneal gegen die nachfolgende Reinfektion zu immunisieren; nach Meinung des Autors kann diese Lebendvakzinierung vor einer Infektion mit *L. tropica* schützen. Bis heute mangelt es an weiteren aussagekräftigen Immunisierungsversuchen.

Es wurden Kreuzimmunitäten zwischen *L. tropica* major und *L. tropica* minor, *L. tropica* und *L. mexicana* sowie von MANSOR-BAHR (1961) zwischen *L. donovani*-Stämmen beschrieben; jener verneinte in Übereinstimmung mit ADLER (1964) den Schutz von *L. donovani* gegen *L. tropica* und umgekehrt, ohne einen Hinweis auf eine kasuistische Literatur zu geben. Immerhin sind im Mittelmeerraum Fälle bei Mensch und Hund bekannt, die eine *L. donovani*-Infektion überwinden konnten.

Trotz allgemeiner Übereinstimmung, daß der Mechanismus des Immun-schutzes gegen die Leishmanieninfektion vorwiegend zellvermittelt ist, sollten nach der Meinung von BEHIN und LOUIS (1984) auch die humoralen Faktoren im Immungeschehen Berücksichtigung finden.

Leishmanienspezifische Antikörper bei natürlich vorkommenden Leishmanieninfektionen sind hauptsächlich in Verbindung mit Kala-azar bekannt geworden. ZUCKERMAN (1975) vermutete, Antikörper könnten in genügender Menge das Parasitenantigen blockieren und den Wirt unfähig machen, eine wirksame zellvermittelte Immunantwort aufzubauen.

Aus neueren histologischen Studien über die kutane Leishmaniose des Menschen schlossen MORIEARTY et al. (1982), daß die im IFAT nachgewiesenen Antikörper keine Aussage über den Schutz zulassen, da kein Zusammenhang zwischen immunglobulinbildenden Zellen in der Läsion und Serumantikörper festgestellt wurde.

Erstmals stellten ODDO und GASCIÒ (1963), zit. in BRAY (1976), die Brauchbarkeit des IFAT für den Nachweis von Leishmania-Infektionen unter Beweis, ein Testverfahren, das sich bis heute bei der Diagnose viszeraler, ebenso kutaner und mukokutaner Leishmaniasen bei Mensch und Tier bewährt hat (PIEKARSKI et al., 1973; ABDALLA, 1980; PAPPAS et al., 1983).

Um möglichst aussagekräftige Antikörpertiter zu erzielen, ist die Auswahl geeigneter Antigene bedeutsam. Im Gegensatz zu BRAY und LAINSON (1965) konnten KRAMPITZ et al. (1981) keinen Unterschied in der Antigenaktivität zwischen amastigoten und promastigoten Entwicklungsformen eines *L. donovani*-Stammes erkennen. Die höchsten Antikörpertiter ergab *Leishmania donovani* als Antigen, insbesondere der Stamm "Kalkutta" (v. SONNENBURG et al., 1979).

Im Tiermodell fiel das Meerschweinchen durch die starke zelluläre Immunantwort und die Anwesenheit von Antikörpern auf, die in Abhängigkeit von der Inokulummenge frühestens 12 Tage p.i. im IFAT nachweisbar waren (BEHFOROUZ et al., 1976), maximal Titer von 1:128 erreichten, und nach der Gesundung deutlich abfielen. Nach den Untersuchungen der Autoren besteht bei der *L. enrietti*-Infektion des Meerschweinchens ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Läsion und der absoluten Titerhöhe. Wie POULTER (1980) ermittelte, ändert sich während des Infektionsverlaufs das Wesen der humoralen Antwort, was sich in einem deutlichen Titerabfall der "protektiven" Antikörper innerhalb von 24 Stunden nach Herausforderung erholter Tiere manifestiert. Die schützende Wirkung des Immunserrums ist somit begrenzt.

Nach Untersuchungen von PRESTON et al. (1972) und POULTER (1979) äußert sich die Immunantwort selbstheilender CBA-Mäuse auf *L. tropica* in einer verzögerten Hypersensibilität und innerhalb von 2 bis 3 Wochen p.i. nachweisbaren Antikörpern. Andere Mäusestämme reagierten auf den Antigenreiz mit erregerartspezifischen Immunantworten, über deren schützende Wirkung jedoch nichts bekannt ist.

In der Literatur erwies sich der Goldhamster als Modell der viszeralen Infektion mit *L. donovani* aus immunologischer Sicht bisher als enttäuschend, da er sich nach STAUBER (1963) als unfähig erwies, eine Immunantwort aufzubauen. Wie der Autor vermutete, könnte die Immunglobulinsynthese des Tieres durch eine Leishmanieninfektion derart gestört sein, daß eine spezifische Antikörperbildung nicht mehr stattfindet.

Bei intrakardial mit Amastigoten von *L. donovani* infizierten Goldhamstern berichteten jedoch CAMPOS-NETO und BUNN-MORENO (1982) über spezifisch agglutinierende Antikörper, die am 35. Tag p.i. den Höchstititer erreichten und bis zum 80. Tag kurz vor dem Tod der Tiere kontinuierlich abfielen. Im Gegensatz zu untersuchten dermatotropen Stämmen stellten die Autoren außer den spezifischen Antikörpern einen Anstieg der Serumimmunglobuline und der antikörperbildenden B-Zellen der Milz fest. Demzufolge ist vermutlich nicht nur die Parasitenlokalisation im Wirt, sondern auch das speziesspezifische Leishmanienantigen für die unterschiedliche Immunantwort bei den klinischen Formen verantwortlich.

Allgemein gilt, wie auch die Beobachtungen von KRAMPITZ et al. (1981) beim Menschen ergaben, daß Tiere mit viszeralen Symptomen höhere Antikörpertiter als bei vorwiegend kutanen Defekten erreichen, über deren Bedeutung als schützender Faktor während der Leishmanieninfektion jedoch weiterhin Unklarheit herrscht.

Auch die Ergebnisse aus passiven Serumtransfer-Versuchen, die die schützende Wirkung von gegen Leishmanien gerichteten Antikörpern demonstrieren sollen, überzeugten nicht. Wie KRETSCHMAR (1965) herausfand, konnte die Übertragung von Immuns serum des Meerschwein-

chens auf normale Empfängertiere nicht vor der herausfordernden Infektion schützen. Zwar gelang es REZAI et al. (1972), im Meer-schweinchen-Immunserum eine "antikörperähnliche" Substanz zu iso-lieren, die das spezifische Wachstum von *L. enrietti* in vitro hemmte, jedoch in vivo beim Schutz vor Mäuseinfektionen versagte. Ebenso wurde der passive Transfer von Serum immuner CBA-Mäuse auf intakte Empfängertiere als unwirksam befunden. Jedoch bewiesen PRESTON und DUMONDE (1976) bei CBA-Mäusen sowie POULTER (1980) beim Meerschweinchen den synergistischen Effekt von Immunzellen und Serum beim Schutz vor der herausfordernden Infektion.

Bis heute mangelt es an einem überzeugenden Beweis zugunsten der humoralen Antwort allein als schützenden Faktor bei der Leishma-nia-Infektion, jedoch weisen die neueren Untersuchungen darauf hin, daß Antikörper bei der Pathogenese und den Mechanismen zur Überwindung der Krankheit mitwirken.

Aus dem bisher Gesagten wird deutlich, daß "die Immunologie von Leishmania-Infektionen an einem keineswegs überzeugenden Punkt angelangt ist" (BEHIN und LOUIS, 1984). Zwar setzen energische Lymphozytenantworten ein, jedoch vergeblich; die Makrophagen scheinen außer Gefecht gesetzt und Serumantikörper keine wesentli-che Rolle zu spielen.

Die ausschließlich intrazelluläre Lage des Parasiten in Makrophagen - Zellen von wesentlicher Bedeutung beim spezifischen und unspezifischen Verteidigungsmechanismus des Wirtes - ist eines der bemerkenswertesten Beispiele von Parasitismus. Die "Immunmaschine-rie" des Wirtes scheint durch die Parasitenstrategie, sich im Makrophagen zu verbergen, überlistet.

III. Eigene Untersuchungen

1. Material und Methoden

Als Versuchstiere standen 220 syrische Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) beiderlei Geschlechts zur Verfügung. Sie wurden über den Tierhandel bezogen und hatten zu Versuchsbeginn ein Körpergewicht von 80 - 100 g. Im ausreichend hellen, jedoch vor direkter Sonneneinstrahlung geschützten und automatisch belüfteten Versuchsterraum herrschte eine gleichmäßige Lufttemperatur von ca. 20° C und eine relative Luftfeuchtigkeit von 40 - 50 %.

Die Goldhamster wurden einzeln in Makrolonkäfigen (Typ II) auf Einstreu der Fa. Altromin (Lage/Lippe) mit trockenem Zellstoff als Nistmaterial gehalten.

Neben Trockenfutter (Alma-Zuchtdiät, Kempten) und Leitungswasser ad libitum mit Crescovit[®]-Zusatz (Multivitamin-Präparat) erhielten die Goldhamster einheitlich zweimal pro Woche ein Gemisch aus Haferflocken und Sonnenblumenkernen sowie kleine Mengen Salat und Apfel als Zuskost.

Es standen als Infektionsmaterial insgesamt 8 aus menschlichen Patienten isolierte, seit Jahren in Goldhamstern durch Passagierung gehaltene *Leishmania*-Stämme der Arten *L. tropica* (5) und *L. donovani* (3) zur Verfügung (Tab. 2). Die Stämme waren seit dem Tage ihrer Isolierung aus dem Menschen auf Goldhamster passagiert worden, ausgenommen die Stämme "N.", "B." und "R.", die nach der Erstisolierung 6 - 8 Monate auf Kultur gehalten wurden.

Die *L. tropica*-Stämme "Ve.", "N." und "B." wurden jeweils aus Hautulzera von Patienten isoliert, die über einen Zeitraum von 1 - 2 Jahren beruflich in Saudi-Arabien tätig waren. Aus Nordafrika stammen die *L. tropica*-Stämme "R." und "Vo.", die jeweils aus menschlichen "Orientbeulen" gewonnen wurden.

Erreger- spezies	Stamm	geogr. Herkunft	Erstisol.	Haltung auf
L. tropica	Ve.	Saudi-Arabien	Apr. 1975	H
	N.	Saudi-Arabien	Jan. 1977	K/H
	B.	Saudi-Arabien	Mai 1977	K/H
	R.	Nordafrika	Jun. 1977	K/H
	Vo.	Nordafrika	Jan. 1982	H
L. donovani	O.	Malta	Sep. 1976	H
	G.	Elba (Italien)	Jan. 1979	H
	F.	Sizilien (Italien)	Jul. 1980	H

Tab. 2: Geographische Herkunft, Zeitpunkt der Isolierung und Haltung der verwendeten menschlichen Leishmanienarten und -stämme

K/H: nach Erstisolierung auf Kultur, später auf Hamster gehalten

H: nach Erstisolierung auf Hamster gehalten

Die Ferienreisenden "G." und "F." infizierten sich auf den zu Italien gehörigen Inseln Elba bzw. Sizilien mit *L. donovani* und zeigten die Symptome einer viszeralen Leishmaniasis.

Der Stamm "O." wurde, im Gegensatz zu den anderen genannten *L. donovani*-Stämmen, die aus Organpunktaten (Milz und Leber) gewonnen wurden, aus multiplen Hautulzera eines aus Malta zurückkehrenden Patienten isoliert. Seit der Übertragung von Ulkusmaterial konnte der Stamm bisher nur intraperitoneal, nicht jedoch intrakutan in Hamster- und Rötelmauspassagen gehalten werden.

1.1. Untersuchungen zur Organotropie verschiedener Leishmanienarten und -stämme

1.1.1 Experimentelle Infektion von Goldhamstern mit *L. tropica* und *L. donovani*

Insgesamt 25 Tiere beider Geschlechter wurden mit den 5 in Tab. 2 aufgeführten, dem *L. tropica*-Artkomplex zugeordneten Stämmen intrakutan infiziert, weitere 15 Goldhamster intraperitoneal mit den drei genannten, dem *L. donovani*-Artkomplex zugehörigen Stämmen (Tab. 3).

Tiere n	Erreger- spezies	Stamm	Infektions- route	Untersuchungs- zeitraum (Wo)
5	<i>L. tropica</i>	Ve.	i.c.	5 und 10
5	<i>L. tropica</i>	N.	i.c.	5 und 10
5	<i>L. tropica</i>	B.	i.c.	5 und 10
5	<i>L. tropica</i>	R.	i.c.	5 und 10
5	<i>L. tropica</i>	Vo.	i.c.	5 und 10
5	<i>L. donovani</i>	O.	i.p.	7-10
5	<i>L. donovani</i>	G.	i.p.	7-9
5	<i>L. donovani</i>	F.	i.p.	6-8

Tab. 3: Anzahl und Untersuchungszeitraum der verwendeten Hamster, Erregerart und -stamm sowie Infektionsroute bei experimenteller *L. tropica*-/*L. donovani*-Infektion

Nach 5-wöchiger Infektionsdauer wurden 15 der experimentell mit *L. tropica* infizierten Tiere mit Äther getötet und das veränderte Unterlippenmaterial präpariert; die Lippenbefunde der übrigen 10 Tiere wurden bis 10 Wochen p.i. regelmäßig makroskopisch kontrolliert und die Goldhamster anschließend getötet. Den verwendeten

L. donovani-infizierten Tieren wurden 6 - 10 Wochen p.i. die Organe Milz und Leber entnommen. Nach Anfertigung von Tupfpräparaten des Unterlippengewebes oder der Organe Milz und Leber erfolgte nach der Fixation (5 Minuten in Methanol reinst, Art. 6008, Merck A.G.) die Anfärbung mit 5 %iger Giemsa-Lösung (Art. 9204, Merck A.G.) in Pufferwasser nach Sörensen (pH 7,2). Der Nachweis von amastigoten *Leishmania*-Formen wurde im Lichtmikroskop (10 x 50 Oel) erbracht und entsprechend der WHO-Graduierung (10 x 100 Oel) die Parasitenzahl bestimmt.

Das zur experimentellen Infektion benutzte Inokulum bestand aus einer Suspension des knotig-veränderten, speckig-glänzenden Gewebes der Unterlippe oder des ebendort lokalisierten Ulkusrandes bzw. des Milzgewebes parasitologisch positiver Tiere. Das veränderte Unterlippen- bzw. Milzgewebe wurde homogenisiert und mit physiologischer Kochsalzlösung auf eine Konzentration von 10^{-1} g/ml (1 Teil Organmaterial, 9 Teile phys. Kochsalzlösung) eingestellt. Nach der WHO-Graduierung (WHO, 1982) entsprach die Parasitendichte im Ausstrich der Lippengewebssuspension 4+, d.h. 1 - 10, im Ausstrich der Milzzellsuspension 5+, d.h. 10 - 100 amastigote Parasiten pro Blickfeld bei 1000-facher Vergrößerung.

Die Parasitendichte gemäß der WHO-Graduierung wird bei 1000-facher Vergrößerung im Mikroskop folgendermaßen beurteilt:

6+ $\hat{=}$ 100	Parasiten/Blickfeld
5+ $\hat{=}$ 10 - 100	Parasiten/Blickfeld
4+ $\hat{=}$ 1 - 10	Parasiten/Blickfeld
3+ $\hat{=}$ 1 - 10	Parasiten/10 Blickfelder
2+ $\hat{=}$ 1 - 10	Parasiten/100 Blickfelder
1+ $\hat{=}$ 1 - 10	Parasiten/1000 Blickfelder

Die intrakutane (i.c.) Verabreichung von 0,5 ml Lippengewebssuspension erfolgte beim Goldhamster in die Unterlippe, wobei die Kanüle lateral eingestochen und subkutan nach medial bis in die Lippe vorgeschoben wurde (KRAMPITZ, 1983). Um Darmläsionen zu vermeiden, wurde die intraperitoneale (i.p.) Gabe von 0,5 ml

Milzzellsuspension mit senkrecht zur Bauchhaut eingestochener Kanüle unter Kopftiefhaltung vorgenommen.

In 2-tägigem Abstand wurden die mit *L. tropica* infizierten Goldhamster auf makroskopisch sichtbare Lippenveränderungen, wie geringe, mittlere oder starke entzündliche Schwellungen und/oder hirse- bis erbsengroße Ulzerationen, überprüft. Die Kontrolle der *L. donovani*-infizierten Tiere erfolgte mehrmals wöchentlich, wobei das Körpergewicht und eventuell äußerlich erkennbare Krankheitserscheinungen, wie Abnahme des Hauturgors, Einsinken der Augen, Hervortreten der Skelettanteile, insbesondere der Akren, blutige Durchfälle und eitrig-eitrige Bindehautentzündungen, festgehalten wurden.

1.1.2 Intraperitoneale Verabreichung von dermatotropen Stämmen

Insgesamt 40 Goldhamstern beiderlei Geschlechts wurden je 0,5 ml Lippengewebssuspension der in Tab. 4 genannten *L. tropica*-Stämme intraperitoneal verimpft.

Erreger- spezies	Tiere m/w	Stamm	Infektions- route	Untersuchungs- zeitraum (Wo)
L. tro- pica	5/3	Ve.	i.p.	8
	5/3	N.	i.p.	8
	5/3	B.	i.p.	8
	5/3	R.	i.p.	8
	5/3	Vo.	i.p.	8

Tab. 4: Anzahl und Untersuchungszeitraum der verwendeten Goldhamster, Erregerstamm sowie Infektionsroute bei experimenteller *L. tropica*-Infektion

Über einen Zeitraum von 2 Monaten fand eine wöchentliche Gewichtskontrolle der Goldhamster statt; auf äußerlich sichtbare Krankheitserscheinungen wurden sie in 2-tägigem Abstand untersucht.

8 Wochen p.i. erfolgte die Tötung und Sektion aller experimentell infizierten Tiere; Gewebe von Lippe, Haut, Milz, Leber und Hoden/Nebenhoden oder Uterus wurde entnommen und hiervon anschließend Giemsa-gefärbte Tupfpräparate angefertigt. Der Parasitennachweis erfolgte lichtmikroskopisch (10 x 100 Oel) gemäß der WHO-Graduierung (S.25).

Die Suspension von inneren Organen, die nach dieser Untersuchung Parasiten aufgewiesen hatten, wurde auf 3 Jungtiere (6 - 8 Wochen alt) intrakutan und auf 3 weitere intraperitoneal überimpft. Nach einem Beobachtungszeitraum von 6 Wochen erfolgte die Tötung der Hamster und die mikroskopische Beurteilung der Parasitendichte in Lippe bzw. Milz und Leber.

Im Institut für Tierpathologie der Universität München wurden histologische Schnitte der im Tupfpräparat positiven, in 4 %-iger Formaldehydlösung eingelegten Organe angefertigt, Paraffinschnitte mit Hämalaun-Eosin (HE) angefärbt und mikroskopisch beurteilt.

1.1.3 Intrakutane Verabreichung von viszerotropen Stämmen

Insgesamt 15 Tiere beider Geschlechter wurden mit 0,5 ml Milzzellsuspension der in Tab. 5 aufgeführten *L. donovani*-Stämme intrakutan in die Lippe infiziert.

In 2-tägigem Abstand wurden über einen Zeitraum von 8 Wochen die Unterlippe (Li) der infizierten Tiere auf makroskopisch sichtbare Veränderungen, wie geringe, mittlere oder stark entzündliche Schwellungen und/oder hirse- bis linsengroße Ulzerationen, untersucht.

8 Wochen p.i. erfolgte die Entnahme von Milz (Mi), Leber (Le) und Lippe (Li) aller experimentell infizierten Goldhamster und die Anfertigung Giemsa-gefärbter Tupfpräparate.

Erreger- spezies	Tiere n	Stamm	Infektions- route	Untersuchungs- zeitraum (Wo)
L. dono-	5	O.	i.c.	8
vani	5	G.	i.c.	8
	5	F.	i.c.	8

Tab. 5: Anzahl und Untersuchungszeitraum der verwendeten Goldhamster, Erregerstamm sowie Infektionsroute bei experimenteller *L. donovani*-Infektion

Die Suspension von Lippengewebe, das mikroskopisch (10 x 100 Oel) Parasiten aufwies, wurde auf je drei 6 bis 8-wöchige Jungtiere intrakutan bzw. intraperitoneal verimpft; 6 Wochen p.i. wurde nach der Tötung der Tiere Gewebematerial der Lippe bzw. von Milz und Leber entnommen und mikroskopisch auf Parasiten untersucht.

1.1.4 Inkubationsversuch mit Normalseren von Mensch, Hund und Hamster

Um den Einfluß von Normalserum verschiedener Wirtsspezies auf die Infektiosität von *L. tropica* und *L. donovani* zu untersuchen, wurde ein Inkubationsversuch durchgeführt.

Das menschliche Vollblut wurde im klinischen Labor des Instituts, das Blut eines Beagle-Hundes aus institutseigener Zucht aus der *V. cephalica antebrachii* entnommen. Mit einer Pasteurpipette wurde Blut aus dem retroorbitalen Venenplexus eines Goldhamsters nach der Methode von HALPERN und PACAUD (1951) unter Äthernarkose gewonnen. Das Vollblut wurde 10 Minuten bei 3000 U/min ($\approx$ 950 g) in einer Hettich Universal K 25 Zentrifuge zentrifugiert, und das gewonnene Serum 1 - 2 Stunden bis zu Versuchsbeginn im Kühlschrank gelagert.

Die Untersuchung der Seren im IFAT auf Leishmanien (S.38) ergab für das Hundeserum einen Antikörpertiter von 1 : 4, für das Menschen- und Hamsterserum keinen nachweisbaren Titer.

Aus 1 Gewichtsteil Organmaterial (Milzgewebe von mit *L. donovani*, Stamm "O.", infizierten Tieren; Unterlippengewebe von mit *L. tropica*, Stamm "Ve.", infizierten Goldhamstern) und 2 Teilen phys. Kochsalzlösung wurde eine Organsuspension (3×10^{-1} g/ml) hergestellt. Die bereitete Suspension wurde 10 Minuten bei 800 U/min (± 125 g) in der oben genannten Zentrifuge zentrifugiert, mit 0,9%-iger NaCl-Lösung gewaschen und wiederholt zentrifugiert. Der jeweilige Überstand wurde nach Anfärbung und mikroskopischer Bestimmung der Parasitendichte, die nach der WHO-Graduierung 6+ betrug, 1 Stunde lang mit gleichem Volumen Serum bei 37°C inkubiert. 0,5 ml der mit Menschen-, Hunde- und Hamsterserum inkubierten Gewebssuspension der Lippe bzw. Milz sowie der als Kontrolle dienenden Inkubation mit phys. Kochsalzlösung wurden intrakutan bzw. intraperitoneal auf je 3 Goldhamster (H), demgemäß auf insgesamt 24 Tiere, verimpft (Abb. 2).

7 Wochen p.i. erfolgte die Tötung aller infizierten Tiere mit Äther. Bei den mit seruminkubierter *L. tropica*-Suspension intrakutan infizierten Tieren wurde der makroskopische und mikroskopische Lippenbefund erhoben.

Bis zur Tötung fand eine wöchentliche Gewichtskontrolle bei den mit seruminkubierter *L. donovani*-Suspension intraperitoneal infizierten Goldhamstern statt. Die Tupfpräparate von Milz und Leber wurden mikroskopisch (WHO-Graduierung, S.25) auf amastigote Parasiten untersucht.

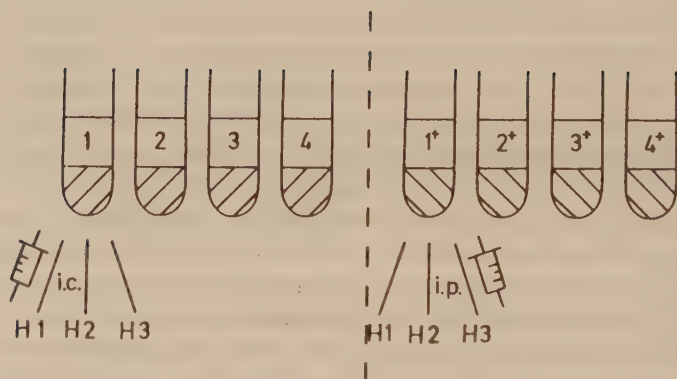


Abb. 2: Inkubationsversuch von *L. tropica* und *L. donovani* mit Menschen-, Hunde- und Hamsternormalseren

1,1⁺ = 0,75 ml Serum Mensch
 2,2⁺ = 0,75 ml Serum Hund
 3,3⁺ = 0,75 ml Serum Hamster (H)
 4,4⁺ = 0,75 ml phys. NaCl-Lösung
 /// = 0,75 ml *L. tropica*-Suspension (Stamm "Ve.")
 \\\ = 0,75 ml *L. donovani*-Suspension (Stamm "O.")

1.2. Untersuchungen zur Immunisierung

1.2.1 Immunisierungsversuch *L. tropica* gegen *L. donovani*

Wie informative Vorversuche ergaben, ließen sich bis 8 Wochen nach der intrakutanen Infektion mit *L. tropica* im Tupfpräparat des Lippengewebes amastigote Parasiten in einer Dichte von 3+ bis 4+ nachweisen, während zu einem späteren Zeitpunkt keine vermehrungsfähigen Parasiten mehr im Lippengewebe vorhanden waren. Infolgedessen wurde die intraperitoneale Verabreichung von *L. donovani*, die später als 2 Monate nach der *L. tropica*-Infektion erfolgte, als "Reinfektion" bezeichnet. Als "Superinfektion" wurde die experimentelle *L. donovani*-Infektion definiert, die früher als 2 Monate nach der Erstinfektion vorgenommen wurde.

Eine Tiergruppe (I) mit 10 Goldhamstern wurde nach Verschwinden der Krankheitssymptome einer experimentellen *L. tropica*-Infektion mit dem *L. donovani*-Stamm "O." reinfiziert. Während bestehender *L. tropica*-Infektion erfolgte die Superinfektion einer weiteren Gruppe (II) aus 10 Tieren mit dem oben genannten *L. donovani*-Stamm (Tab. 6, 7).

Gruppe I	Tiere	Erstinfektion	Reinfektion	Reinfektion
	n	(i.c.) Stamm	(i.p.) Stamm	(Tage p.i.)
	5	Ve.	O.	> 60
	5	N.	O.	> 60

Tab. 6: Anzahl der mit *L. tropica* infizierten und mit *L. donovani* reinfizierten Hamster, Erregerstamm bei Erst-/Reinfektion und Zeitpunkt der Reinfektion

Gruppe II	Tiere n	Erstinfektion (i.c.) Stamm	Reinfektion (i.p.) Stamm	Reinfektion (Tage p.i.)
	5	Ve.	0.	< 60
	5	N.	0.	< 60

Tab. 7: Anzahl der mit *L. tropica* infizierten und mit *L. donovani* superinfizierten Hamster, Erregerstamm bei Erst-/Superinfektion und Zeitpunkt der Superinfektion

Die Erstinfektion wurde mit 0,5 ml Lippengewebesuspension (10^{-1} g/ml) von mit *L. tropica* (Stamm "Ve." oder "N.") infizierten Tieren intrakutan in die Lippe ausgeführt.

Mit 0,5 ml Milzzellsuspension *L. donovani*-infizierter Goldhamster (Stamm "0.") erfolgten die intraperitoneale Reinfektion der Tiergruppe I und die Superinfektion der Gruppe II; gleichermaßen wurden 20 Kontrolltiere infiziert, deren Ausgangsgewichte den Versuchstieren in etwa entsprachen.

In 10-tägigem Abstand wurden die Körpergewichte aller infizierten Tiere ermittelt und makroskopisch sichtbare Krankheitserscheinungen, wie Verminderung der Hautelastizität, mattes und struppiges Haarkleid, eitrige Bindehautentzündung und blutiger Durchfall sowie die Lippenbefunde festgehalten.

5 Tiere, die die Re- oder Superinfektion mit *L. donovani* überlebten, wurden 100 Tage p. rei. mit einer dreifach höher konzentrierten Milzzellsuspension (3×10^{-1} g/ml; *L. donovani*-Stamm "0.") erneut reinfiziert; ebenso je 2 Kontrolltiere gleichen Gewichts.

An die Sektion aller verendeten Versuchstiere schloß sich die Bestimmung der relativen Milzgewichte (Milzgewicht/Körpergewicht) und die mikroskopische Beurteilung der Tufpräparate von Milz (Mi) und Leber (Le) entsprechend der WHO-Graduierung an. Makroskopisch auffällige Organteile wurden zur histologischen Untersuchung in

4%-iger Formaldehyd-Lösung eingelegt und im Institut für Tierpathologie der Universität München nach Anfertigung von Paraffindünnschnitten und anschließender HE-Färbung mikroskopisch untersucht.

1.2.2 Immunisierungsversuch *L. tropica* gegen *L. tropica*

- a. Insgesamt 10 Goldhamster wurden nach dem Verschwinden der Krankheitssymptome der experimentellen *L. tropica*-Infektion mit derselben Erregerspezies intrakutan in die Lippe reinfiziert (Tab. 8).

3 Monate nach der intrakutanen Verabreichung von *L. tropica* in die Lippe wurden 5 Tiere mit dem homologen, 5 Tiere mit dem heterologen Parasitenstamm "Ve." intrakutan in die Lippe reinfiziert. Als Kontrolltiere wurden 5 mit dem *L. tropica*-Stamm "Ve." intrakutan infizierte Tiere verwendet.

6 Wochen p.rei. erfolgte die mikroskopische Untersuchung der Organe Milz (Mi), Leber (Le) und Lippe (Li) und die Beurteilung der Parasitendichte gemäß der WHO-Graduierung (S.25).

Tiere n	Erstinfektion (i.c.) Stamm	Reinfektion (i.c.) Stamm	Reinfektion (Tage p.i.)
5	Ve.	Ve.	90
2	N.	Ve.	90
1	B.	Ve.	90
1	R.	Ve.	90
1	Vo.	Ve.	90

Tab. 8: Anzahl der mit *L. tropica* i.c. infizierten bzw. reinfizierten Hamster, Erregerstamm bei Erst-/Reinfektion und Zeitpunkt der Reinfektion

- b. Im 2. Teil der Versuchsreihe wurden insgesamt 10 männliche Goldhamster nach abgeheiliter *L. tropica*-Infektion der Lippe mit derselben Erregerspezies intraperitoneal reinfiziert (Tab. 9).

Tiere n	Erstinfektion (i.c.) Stamm	Reinfektion (i.p.) Stamm	Reinfektion (Tage p.i.)
5	Ve.	Ve.	90
2	N.	Ve.	90
1	B.	Ve.	90
1	R.	Ve.	90
1	Vo.	Ve.	90

Tab. 9: Anzahl der mit *L. tropica* i.c. infizierten bzw. i.p. reinfizierten Hamster, Erregerstamm bei Erst-/Reinfektion und Zeitpunkt der Reinfektion

3 Monate nach der intrakutanen Verabreichung von *L. tropica* in die Lippe wurden 5 Tiere mit dem homologen, 5 weitere Tiere mit dem heterologen Parasitenstamm "Ve." intraperitoneal reinfiziert. Als Kontrolltiere dienten 5 in der Tab. 4 aufgeführte Goldhamster, die mit dem *L. tropica*-Stamm "Ve." intraperitoneal infiziert wurden. 8 Wochen p.rei. wurde die Parasitendichte in den Organen Lippe (Li), Milz (Mi), Leber (Le) und Hoden (Ho), entsprechend der WHO-Graduierung, bestimmt.

Die Suspension von inneren Organen, die nach der Reinfektion mikroskopisch Parasiten aufwiesen (aus Versuchsreihe a. und b.), wurde auf je 3 Jungtiere im Alter von 6 - 8 Wochen intrakutan bzw. intraperitoneal überimpft. 6 Wochen p.i. erfolgte die Tötung der Goldhamster und die mikroskopische Auswertung der Tupfpräparate von Lippe bzw. Milz und Leber (WHO-Graduierung).

1.2.3 Milzzelltransfer von *L. tropica*-infizierten Goldhamstern auf Empfängertiere und nachfolgende *L. tropica*-/*L. donovani*-Infektion

Auf insgesamt 25 Goldhamster wurde je 0,5 ml aufbereitete Milzzellsuspension (10^{-1} g/ml) von *L. tropica*(Ve)-infizierten und parasitologisch positiven Tieren intraperitoneal verimpft. Die frisch entnommene Milz wurde in RPMI-Medium (Fa. Serva) aufgenommen, homogenisiert, 10 Minuten bei 1000 U/min (≈ 150 g) in einer Hettich Universal K 25 Zentrifuge zentrifugiert und jeweils 0,5 ml des gewonnenen Überstandes auf die Versuchstiere verimpft.

Nach interkurrentem Sterben von 5 Tieren wurden 2 Gruppen (I und II) mit je 10 Tieren gebildet. Innerhalb der Gruppe I und II wurden jeweils Untergruppen zusammengestellt, wovon je 7 Tiere einmal oder zweimal mit der oben beschriebenen, jedoch dreifach höher konzentrierten (3×10^{-1} g/ml) Milzzellsuspension intraperitoneal geboostert wurden (Tab. 10).

	Tiere n	1. Boosterung (Tage p.i.)	2. Boosterung (Tage p.i.)	Infektion (Tage p.i.) mit
Gruppe I	4	14	21	28 <i>L. tropica</i>
	3	21	-	28 (Stamm "Ve.")
	3	-	-	28 i.c.
Gruppe II	4	14	21	28 <i>L. donovani</i>
	3	21	-	28 (Stamm "F.")
	3	-	-	28 i.p.

Tab. 10: Anzahl der mit einer Milzzellsuspension (*L. tropica*) immunisierten Hamster der Gruppe I und II, Zeitpunkt der Boosterimpfung (en) sowie der *L. tropica*- bzw. *L. donovani*-Infektion

Die Gruppe I wurde mit je 0,5 ml Suspension von parasitenhaltigem Lippengewebe *L. tropica*-infizierter Tiere (Stamm "Ve.") intrakutan in die Lippe, die Gruppe II mit je 0,5 ml Milzzellsuspension *L. donovani*-infizierter Goldhamster (Stamm "F.") intraperitoneal infiziert.

Als Kontrolltiere der Gruppe I wurden 10 Goldhamster - sowohl 5 gesunde Tiere als auch 5 Tiere, die 0,5 ml einer Milzzellsuspension gesunder, nicht infizierter Hamster erhalten hatten - intrakutan mit *L. tropica* (Stamm "Ve.") infiziert. Entsprechend dienten 10 weitere Tiere als Kontrollen der Gruppe II, denen die gleiche Dosis an *L. donovani*-Erregermaterial (Stamm "F.") wie den Versuchstieren intraperitoneal verabreicht wurde.

6 Wochen nach der *L. tropica*-Infektion wurden die Tiere der Gruppe I sowie die zugehörigen Kontrollen getötet, und die Tupfpräparate der Lippe mikroskopisch auf Parasiten untersucht.

In 10-tägigem Abstand erfolgte die Bestimmung der Körpergewichte der Tiere der Gruppe II sowie der entsprechenden Kontrollen. Makroskopisch sichtbare Krankheitserscheinungen, wie Abmagerung, eitrige Bindehautentzündung und Durchfall, wurden festgehalten. Nach dem natürlichen Tod der Tiere der Gruppe II, einschließlich der Kontrolltiere, erfolgte die Sektion und die mikroskopische Auswertung der Tupfpräparate der Organe Milz (Mi) und Leber (Le) gemäß der WHO-Graduierung.

1.3. Untersuchungen über Serumantikörper und Infektionsverlauf

Der Verlauf der Antikörpertiter wurde bei insgesamt 25 Tieren aus verschiedenen Infektionsgruppen über einen Zeitraum von 6 bis 29 Wochen p.i. gemessen.

Wöchentlich wurden die Antikörpertiter untersucht, die während des Infektionsverlaufs bei 10 mit *L. tropica* (Ve) infizierten (Tab. 3 und Tab.15/1/) und bei 10 weiteren *L. donovani* (0) infizierten Goldhamstern auftraten (Tab. 17 b und 18 b). Drei mit dem Stamm

"R." intrakutan infizierte Tiere der Tab. 3 wurden ebenfalls serologisch auf Antikörpertiter überprüft.

Gleichermaßen erfolgte die Bestimmung des Antikörpertiter-Verlaufs bei einem Versuchstier (Nr. 17171), das nach dem Verschwinden klinischer Symptome einer *L. tropica*-Infektion 68 Tage p.i. mit *L. donovani* intraperitoneal reinfiziert wurde, die Reinfektion 100 Tage lang überlebte und anschließend erneut mit *L. donovani* reinfiziert wurde (Tab. 15/2/).

Auch das Serum eines weiteren Versuchstieres (Nr. 17422), das nach dem Abheilen der experimentellen Hautleishmaniasis 90 Tage p.i. mit *L. tropica* intrakutan reinfiziert wurde, wurde auf Antikörper überprüft (Tab. 19).

In 7-tägigem Abstand erfolgte die Blutentnahme (0,5 ml) aus dem retroorbitalen Venenplexus der Versuchstiere. Das Serum wurde, wie auf S. 28 beschrieben, gewonnen und in 100 µl Einzelportionen bei -20°C im Gefrierschrank gelagert.

Die Antikörpertiter-Bestimmung erfolgte mittels des indirekten Immunfluoreszenz-Antikörper-Tests (IFAT), der die an das Antigen gebundenen spezifischen Serumantikörper nachweist; nach deren Reaktion mit den tierartspezifischen Fluoreszein-konjugierten Antiglobulinen wird der Antigen-Antikörper-Komplex im Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht. Als Antigen wurde Milzzellmaterial von mit *L. donovani* (Stamm "Kalkutta") infizierten Goldhamstern mit einer Dichte amastigoter Parasiten von 5+ bis 6+ (WHO-Graduierung) verwendet und auf gefelderte Objektträger (Fa. Hölzel) aufgebracht. Nach Lufttrocknung über Nacht, 5 Minuten dauernder Fixation mit Methanol (reinst, Art. 6008, Fa. Merck) und wiederholtem Trocknen wurden die Glasplättchen einzeln in Seidenpapier verpackt, nach Zugabe von Kieselgel in Gefriertüten eingeschweißt und bei -20°C bis zum Gebrauch in Kunststoffschachteln aufbewahrt. Als Konjugat diente Fluochrome-markiertes Goat Anti-Hamster Ig G (H + L) der Fa. Cappel Laboratories, Cochranville, USA, in einer Verdünnung von 1 : 20.

Folgende Arbeitsschritte waren auszuführen:

- Verdünnung der zu untersuchenden Seren in 2-er Verdünnungsschritten von 1 : 16 bis 1 : 512 auf Mikrotiterplatten (Fa. Greiner) mit IFAT-Puffer
- Auftragen der jeweiligen Verdünnungsstufen (je 10 µl) auf die Reaktionsfelder der IFAT-Objektträger
- 45 Minuten Inkubation bei 37°C in der feuchten Kammer
- Waschen der Objektträger 3 x 5 Minuten in PBS (pH 7,2 - 7,4) und Trocknen mit Filterpapier
- Auftragen der Konjugatverdünnung (je 10µl), die 1 %-iges Evans Blue zur Gegenfärbung enthält
- 45 Minuten Inkubation bei 37° C in der feuchten Kammer
- Waschen der Objektträger 3 x 5 Minuten in PBS und 3 x 5 Minuten in Aqua dest. und Trocknen mit Filterpapier
- Auftragen von Glycerin-PBS-Gemisch (pH 7,6) und Auflegen von Deckgläsern

Der verwendete IFAT-Puffer ist ein 1 : 20 verdünntes Phosphat-Puffer-Konzentrat (Fa. Behring).

Die Konjugatverdünnung 1 : 20 setzte sich aus PBS 0,95 ml, Konjugat 0,05 ml und Evans Blue (1 %) 0,1 ml zusammen.

Die Auswertung erfolgte mit dem Fluoreszenzmikroskop ("Orthoplan", Fa. Leitz; Filterkombination 2) im Auflicht bei 6,3 x 40-facher Vergrößerung.

2. Ergebnisse

2.1 Ergebnisse der Untersuchungen zur Organotropie verschiedener Leishmanienarten und -stämmen

2.1.1 Experimentelle Infektion von Goldhamstern mit *L. tropica* und *L. donovani*

Bei allen in Tab. 3 aufgeführten, mit *L. tropica* intrakutan infizierten Goldhamstern traten nach 7 ± 2 Tagen hirse- bis linsengroße entzündliche Schwellungen in der Umgebung der Einstichstelle auf. Die Umfangsvermehrung im Unterlippenbereich nahm von da an ständig zu und erreichte im Einzelfall Erbsengröße (3 - 4 Wochen p.i.). 20 bis 25 Tage p.i. setzte bei 19 der 25 Tiere die Ulkusbildung ein, die häufig mit eitriger Gewebeeinschmelzung einherging (Abb. 3).



Abb. 3: Entzündliche Schwellung und Ulkus der Unterlippe eines mit *L. tropica* i.c. infizierten Goldhamsters (34 Tage p.i.)

Das Lippengewebe von 15 Tieren, die bereits 5 Wochen p.i. in der akuten Krankheitsphase getötet wurden, wies eine Parasitendichte von 4+ (WHO-Graduierung) auf. Nach einem Zeitraum von 6 - 8 Wochen p.i. bildeten sich bei den 7 übrigen Tieren die Geschwüre zurück, die von Hirsekorn- bis Linsengröße reichten, verschorften und vernarbten schließlich. Bei den 10 Wochen p.i. getöteten Tieren ließen sich mikroskopisch keine Leishmanien in der Lippe mehr nachweisen.

Anhand der makroskopischen Lippenbefunde, der mikroskopisch ermittelten Parasitendichte im Unterlippengewebe 6 Wochen p.i. sowie des Zeitpunktes der Ulkusabheilung konnte keine Stammspezifität der *L. tropica*-Isolate festgestellt werden (Tab. 11).

Tiere	<i>L. tropica</i> -	gestorben	getötet (6 Wo p.i.)	Beginn der
n	Stamm	<3 Wo.p.i.	n Parasitendichte	Abheilung
		n		(Wo p.i.)
5	Ve.	-	3 4+	7
5	N.	1	3 4+	6
5	B.	1	3 4+	6-8
5	R.	1	3 4+	6-8
5	Vo.	-	3 4+	6-8

Tab. 11: Infektionsverlauf, mikroskopischer Parasitennachweis im Lippengewebe (WHO-Graduierung) und Beginn der Ulkusabheilung bei 25 mit 5 verschiedenen *L. tropica*-Stämmen i.c. experimentell infizierten Goldhamstern

Infolge einer mikroskopisch nachweisbaren, bakteriellen Verunreinigung der Hautstämme traten bei 5 der 25 Tiere ausgedehnte Abszesse im Hals- und Brustbereich auf; drei Goldhamster starben an der nachfolgenden Septikaemie. Trotz Gentamycin-Zusatzes (Refobacin®; 2 mg/kg) zum Inokulum, der die Ulkusbildung nicht beeinträchtigte, jedoch zu einer Verzögerung des Infektionsverlaufes

führte, konnte die Abszeßbildung in 10 % der Fälle nicht verhindert werden.

Eine intraperitoneale Infektion mit L. donovani führte immer zum Tod der Tiere, wobei die durchschnittliche Überlebenszeit der mit Stamm "O." infizierten am längsten, der mit Stamm "F." infizierten Hamster am kürzesten war (Tab. 12). Zum Zeitpunkt der Agonie fielen alle Tiere durch starke Abmagerung, Lichtscheue infolge eitriger Konjunktivitis, Speichelfluß und blutigen Durchfall auf. In den Tupfpräparaten der inneren Organe konnten amastigote Parasiten in einer Dichte von durchschnittlich 5+ (Milz) und 4+ (Leber) nachgewiesen werden (Tab. 12).

Tiere n	L. donovani- Stamm	durchschnittl. Lebensdauer (Tage p.i.)	Parasitendichte (p.m.)	
			Mi	Le
5	O.	50-70	5+	4+
5	G.	50-65	5+	4+
5	F.	40-55	5+	4+

Tab. 12: Durchschnittliche Lebensdauer sowie Parasitendichte in Milz und Leber von je 5 mit 3 verschiedenen L. donovani-Stämmen i.p. infizierten Goldhamstern

Ab der 5. Woche p.i. traten bei 6 der 15 mit L. donovani infizierten Tieren stamunabhängig in der Unter- und Oberlippengegend eine Rötung und Schwellung auf, aus der sich ein bis zu haselnußgroßes Geschwür entwickelte; schließlich konnten im Bereich der Haut-Schleimhaut-Grenze umschriebene Nekrosen beobachtet werden. In den post mortem angefertigten Tupfpräparaten der Ulzera und der nekrotischen Bezirke fanden sich niemals Leishmanien, jedoch regelmäßig Ansammlungen von gramnegativen Stäbchenbakterien.

Trotz unterschiedlicher geographischer Herkunft der *L. donovani*-Stämme konnten keine deutlichen Unterschiede im Krankheitsverlauf der Tiere festgestellt werden.

Nach experimenteller Infektion mit den in Tab. 12 genannten *L. donovani*-Stämmen ergab die wöchentliche Gewichtskontrolle bei Gegenüberstellung der *L. tropica*-infizierten Versuchstiere und der nicht infizierten Kontrollen eine für mit *L. donovani* infizierte Tiere typische Gewichtsentwicklung (Tab. 13).

Erreger- art	Tiere stamm	n	mittl. KGW (g)			n. exp. Infektion in Woche p.i.						
			0	1	2	3	4	5	6	7		
<i>L. tropica</i>	Ve.	5	99	93	87	85	100	119	125	132		
	N.	5	104	98	94	95	103	120	129	143		
	B.	5	97	91	86	84	99	117	126	138		
<i>L. donovani</i>	O.	5	99	98	106	110	95	83	66	62		
	G.	5	88	99	103	111	108	105	97	74		
	F.	5	105	108	114	92	75	70	63	†		
Kontrollen		10	108	112	113	115	119	124	127	132		

Tab. 13: Mittleres Körpergewicht (KGW in g) von je 5 Goldhamstern nach experimenteller *L. tropica*- bzw. *L. donovani*-Infektion sowie der Kontrolltiere über einen Zeitraum von 7 Wochen

Bei den mit *L. tropica* infizierten Tieren fiel auf, daß in den ersten 3 Wochen p.i. das Körpergewicht deutlich abfiel, in der 4. Woche das Ausgangsgewicht wieder erreicht wurde und anschließend kontinuierlich anstieg. Dieser Gewichtsabfall fiel mit dem Zeitpunkt der sich entwickelnden Schwellung im Lippenbereich zusammen, die eine Freßbehinderung nach sich zog. Die Ulkusbildung beeinflusste die Tiere in der Nahrungsaufnahme nicht, da sie zum Zeitpunkt der Ulkusbildung bereits wieder zunahmen.

Die mit viszerotropen Stämmen infizierten Tiere nahmen bis zur 3. Woche an Gewicht zu, darauf jedoch deutlich und rasch ab.

2.1.2 Intraperitoneale Verabreichung von dermatotropen Stämmen

Innerhalb des Zeitraums von 2 Wochen p.i. starben 15 der in Tab. 4 genannten 40 mit L. tropica i.p. infizierten Versuchstiere an eitrigen Peritonitiden. Nach Gentamycin-Zugabe zum Inokulum (Refobacin®; 2 mg/kg) ging die Sterberate auf 20 % zurück.

6 - 7 Wochen p.i. verloren alle verbliebenen männlichen Tiere (9) deutlich an Gewicht, zeigten ein mattes, struppiges Haarkleid und als auffälligsten Befund hasel- bis zu walnußgroße, entzündliche, häufig ulzerierende Schwellungen im Hodenbereich (Abb. 4).

Im Tupfpräparat des veränderten Hoden- und Nebenhodengewebes ließen sich 8 Wochen p.i. Parasiten in einer Dichte von 6+ (WHO-Graduierung) nachweisen. Die histopathologische Untersuchung ergab eine interstitiell granulomatöse, zentral nekrotische, histiozytäre Epididymitis mit Leishmanien-Ansammlungen in den Makrophagen (Abb. 5).

Bei 2 mit dem L. tropica-Stamm "Ve." infizierten männlichen Tieren wurde neben dem erwähnten Hodenbefund im Milz- und Lebertupfpräparat eine Parasitendichte von 3+ festgestellt. Nach Überimpfung der parasitenhaltigen Milzzellsuspensionen auf Jungtiere zeigten sich 20 Tage p.i. die für L. tropica typischen Veränderungen der Lippe, und es konnten in diesem Bereich 42 Tage p.i. Parasiten (4+) nachgewiesen werden. In keinem Fall jedoch, auch nicht nach wiederholter Passagierung, fanden sich Parasiten in den Viszera.

Einer von 10 weiblichen, infizierten Goldhamstern (L. tropica-Stamm "N.") wies bei geringer Gewichtsabnahme 52 Tage p.i. in der Flankengegend eine ovale, 0,5 cm durchmessende, scharf begrenzte Wunde im Tegument auf (Abb. 6a und b).

Im Tupfpräparat des Wundrandes befanden sich Parasiten in einer Dichte von 6+, in den untersuchten Organen Milz und Leber ließen

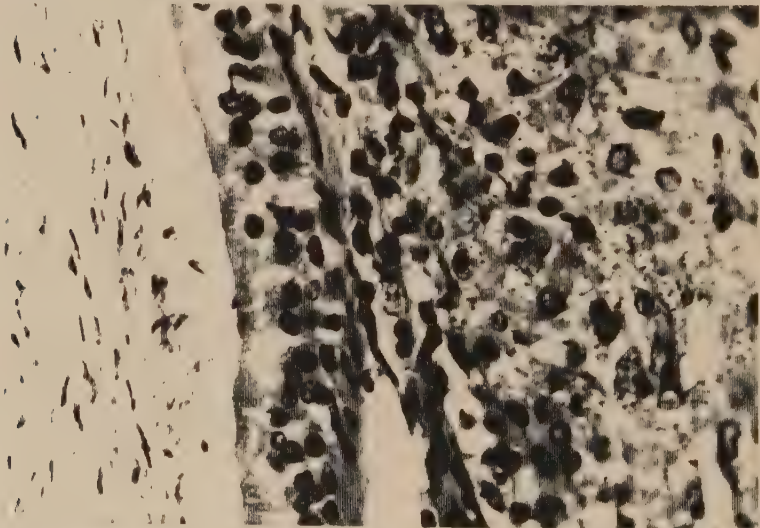
sich keine Parasiten nachweisen.

Die übrigen weiblichen Tiere nahmen während des Infektionsverlaufs kontinuierlich an Gewicht zu und zeigten keine sichtbaren Krankheitserscheinungen. Bei der Sektion von zwei dieser Goldhamster fanden sich im Uterus- und Darmgekröse helle, hirsekorngroße Knötchen. Das Tupfpräparat dieser granulomartigen Formationen wies Parasiten in einer Dichte von 5+ auf, während die übrigen untersuchten Organe (Milz, Leber) mikroskopisch keine Parasiten enthielten.

Abb. 4



Abb. 5



Nebenhodenkanal

Epithel

interstitielles Bindegewebe

Abb. 4: Einseitige Schwellung im Hodenbereich eines Goldhamsters 48 Tage nach i.p. Verabreichung des *L. tropica*-Stammes "Ve."

Abb. 5: Massenansammlungen von Leishmanien im Bindegewebe des Nebenhodens desselben Tieres 48 Tage p.i. (Paraffinschnitt, HE-Färbung, Vergrößerung 1200 x)

a.



b.

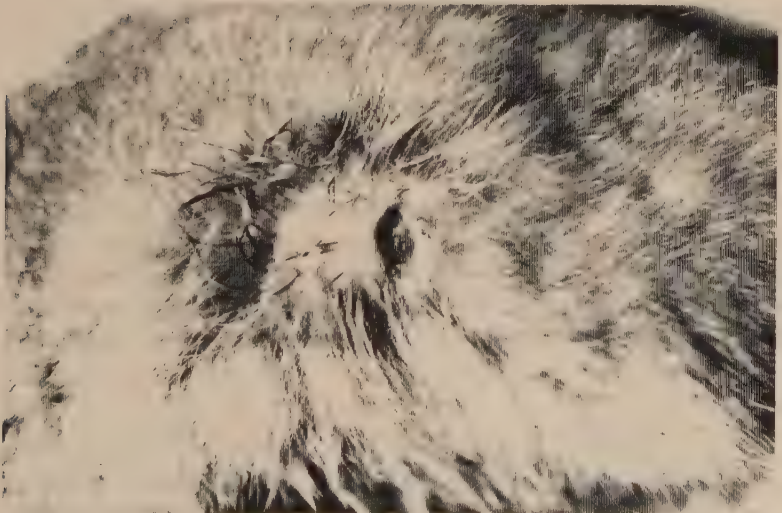


Abb. 6a und b: Wunde in der Flankengegend eines weiblichen Goldhamsters 52 Tage p.i. nach i.p. Verabreichung des *L. tropica*-Stammes "N."

2.1.3 Intrakutane Verabreichung von viszerotropen Stämmen

Vier der 5 mit L. donovani (Stamm "O.") intrakutan infizierten Hamster (Tab. 5) zeigten bereits 2 Wochen p.i. eine mittlere bis starke entzündliche Schwellung der Unterlippe, die knotig-verhärtetes Gewebe aufwies. 8 Wochen p.i. konnten bei einem Tier (Nr. 17736) außer im Tupfpräparat der Lippe auch in dem von Milz und Leber Parasiten in einer Dichte von 3+ bis 4+ gefunden werden (Tab. 14).

Hamster Nr.	L. dono- vani- Stamm	makroskop. Befund Li	mikroskop. Befund 8 Wo. p.i.		
			Mi	Le	Li
17735	O.	mittl. Schwellung	-	-	4+
17736	O.	starke Schwellung	4+	3+	4+
17737	O.	o.B.	-	-	-
17738	O.	mittl. Schwellung, hirsekorngr. Ulkus	-	-	4+
17739	O.	starke Schwellung	-	-	4+
17786	F.	o.B.	4+	3+	-
17868	F.	ger. Schwellung	-	-	-
17869	F.	o.B.	-	-	-
17870	F.	o.B.	4+	4+	-
17871	G.	o.B.	4+	3+	-
17872	G.	o.B.	3+	3+	-
17873	G.	o.B.	-	-	-
17874	G.	o.B.	-	-	-

Tab. 14: Parasitenstamm, makroskopischer Lippenbefund und Parasitendichte (WHO-Graduierung) in Milz, Leber und Lippe nach i.c. L. donovani-Infektion

Nachdem das parasitenhaltige Lippengewebsmaterial intrakutan auf Jungtiere verimpft worden war, ließen sich 42 Tage p.i. Parasiten sowohl in der Lippe als auch in den Viszera nachweisen. Nach intraperitonealer Verabreichung waren regelmäßig nur die inneren Organe befallen, so daß sich kein rein dermatotroper Substamm von *L. donovani* (Stamm "O.") abtrennen ließ.

Die Parasitenstämme "F." und "G." zeigten nach intrakutaner Verabreichung keine Affinität zum Lippengewebe, bei der Hälfte der Versuchstiere jedoch zu den inneren Organen.

2.1.4 Inkubationsversuch mit Normalseren von Mensch, Hund und Hamster

Im mikroskopischen Bild der mit menschlichem Serum inkubierten *L. tropica*-Suspension (Abb. 2) konnten sich im Zustand der Lysis befindliche Parasiten gefunden werden. Die intrakutane Verimpfung der mit Humanserum inkubierten *L. tropica*-Suspension führte innerhalb von 7 Wochen p.i. bei keinem der 3 Probanden zu makroskopisch sichtbaren Lippenveränderungen.

Diejenigen Tiere, denen eine mit menschlichem Serum inkubierte *L. donovani*-Suspension intraperitoneal verabreicht wurde, zeigten auch nach Wiederholung des Versuchs nicht einheitliche Veränderungen. Einerseits wurden 4 stark abgemagerte Tiere mit positiven Parasitenbefunden (4+ bis 5+) im Tupfpräparat von Milz und Leber festgestellt, andererseits konnten auch 2 normalgewichtige Hamster mit parasitenfreien Organen 7 Wochen p.i. vorgefunden werden.

Die Hunde- und Hamsterseren beeinflussten die Parasiten in der Suspension im Hinblick auf ihre Infektiosität nicht. Alle intrakutan oder intraperitoneal infizierten Versuchstiere zeigten, entsprechend den Kontrolltieren, die bereits beschriebenen erregerspezifischen Symptome und einheitlich massenhaft Parasiten (5+ bis 6+) im Tupfpräparat von Lippe bzw. Milz und Leber.

2.2 Ergebnisse der Untersuchungen zur Immunisierung

2.2.1 Immunisierungsversuch *L. tropica* gegen *L. donovani*

Zum Zeitpunkt der Reinfektion mit *L. donovani* (Stamm "0.") zeigten die Hamster der Gruppe I (1) und (2), Nr. 16584 - 17171, entweder keinen makroskopischen Lippenbefund oder nur geringe entzündliche Schwellungen mit bereits abgeheilten Ulzera im Unterlippenbereich (Tab. 15).

Hamster Gruppe	Nr.	Reinfektion (Tage p.i.)	makroskop. Befund (Li) bei Reinf. mit <i>L. donovani</i>
I.	16584	122	ger. Schwellung
	16587	122	o.B.
	(1) 16590	122	o.B.
	16605	122	o.B.
	16672	99	o.B.
(2)	16934	100	ger. Schwellung
	17049	76	vernarbtes Ulkus
	17050	76	o.B.
	17052	76	o.B.
	17171	68	mittl. Schwellung, verschorftes Ulkus

Tab. 15: Zeitpunkt der Reinfektion mit *L. donovani* und Lippenbefunde der Hamstergruppe I nach vorangegangener Infektion mit 2 versch. *L. tropica* Stämmen (1) = Ve., (2) = N.

Als die Superinfektion mit L. donovani (Stamm "O.") bei der Hamstergruppe II (1) und (2), Nr. 17307 - 17621, vorgenommen wurde, bestanden ausgeprägte entzündliche Lippenschwellungen und Ulzerationen, die von Hirse- bis Linsengröße reichten (Tab. 16).

Hamster Gruppe	Nr.	Superinfektion (Tage p.i.)	makroskop. Befund (Li) bei Superinf. mit L. donovani
II. (1)	17307	39	mittl. Schwellung
	17399	27	starke Schwellung
	17400	27	hirsekorngr. Ulkus
	17401	27	mittl. Schwellung
	17402	27	mittl. Schwellung
(2)	17403	36	linsengr. Ulkus
	17477	49	starke Schwellung
	17573	39	starke Schwellung
	17574	39	mittl. Schwellung
	17621	27	mittl. Schwellung, hirsekorngr. Ulkus

Tab. 16: Zeitpunkt der Superinfektion mit L. donovani und Lippenbefunde der Hamstergruppe II nach vorangegangener Infektion mit 2 versch. L. tropica Stämmen (1) = Ve., (2) = N.

Als klinischer Parameter für die Ausbildung eines möglichen Infektionsschutzes wurde die Entwicklung des Körpergewichts der Goldhamster nach der Re- bzw. Erstinfektion (Kontrolltiere) mit L. donovani herangezogen (Abb. 7a und b).

Ein Vergleich der Entwicklung der Körpergewichte der Gruppe I (1) mit derjenigen der Kontrolltiere veranschaulicht, daß die Gewichtskurven der reinfizierten Tiere und der Kontrolltiere in den ersten 3 Wochen p.i. parallel anstiegen, später aber diejenigen der Kontrollen meist früher und deutlich steiler abfielen.

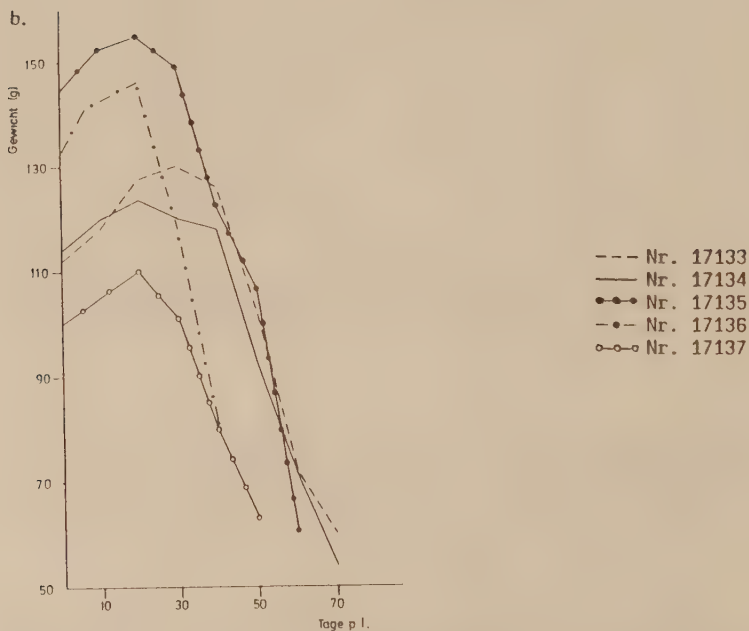
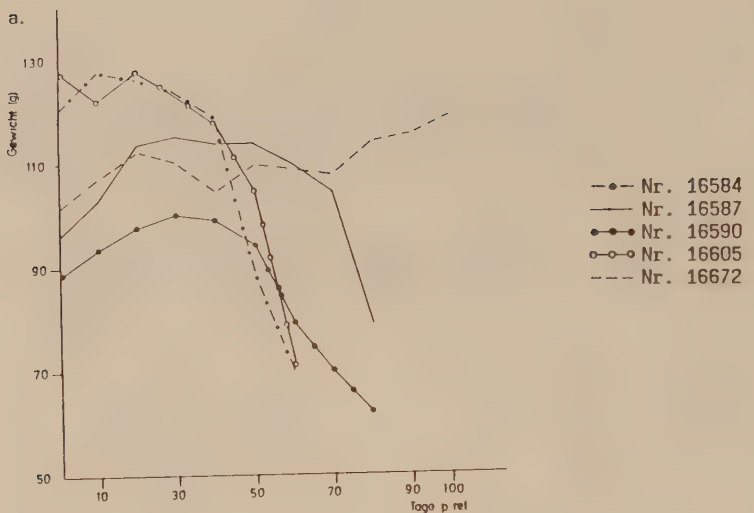


Abb. 7a und b: Entwicklung des Körpergewichts der mit *L. tropica* (Ve.) infizierten und *L. donovani* (O.) reinfizierten Hamster Nr. 16584 - 16672 (a) und der mit *L. donovani* infizierten Kontrollen Nr. 17133 - 17137 (b)

Mit einem starken Gewichtsverlust der Kontrollhamster zwischen dem 30. und 40. Tag p.i. ging eine hochgradige Störung des Allgemeinbefindens einher. In der agonalen Krankheitsphase traten dann starke Abmagerung, Lichtscheue infolge eitriger Konjunktivitis, struppiges Haarkleid und blutiger Durchfall auf. Vom 30. Tag p.i. an entwickelten sich bei 3 der 5 infizierten Kontrollen ulzeröse Veränderungen im Lippen-Nasenbereich, die schließlich zu Nekrosen an der Haut-Schleimhautgrenze führten. Die mikroskopische Untersuchung dieser Bezirke auf Leishmanien erwies sich in allen Fällen als negativ.

Vier der 5 reinfizierten Tiere verloren zwischen dem 40. und 50. Tag p.rei. unterschiedlich stark an Gewicht und zeigten die oben beschriebene Symptomatik der Kontrollen. Im Zeitraum zwischen dem 30. und 40. Tag p.rei. flammte bei den Hamstern Nr. 16590 und 16605 die Entzündung im Lippenbereich, wie sie für *L. tropica* typisch ist, erneut auf.

Als einziges reinfiziertes Tier überlebte der Goldhamster Nr. 16672 bei gutem Allgemeinbefinden und konstantem Körpergewicht den Zeitraum von 100 Tagen p.rei..

Nach erneuter, dreimal höher dosierter Reinfektion mit *L. donovani* verlor der Hamster Nr. 16672 vom 48. Tag p.rei. zunehmend an Gewicht; ohne weitere auffällige Symptome zu zeigen, wurde das Tier am 52. Tag nach der 2. Reinfektion in der Agonie entblutet. Zwei mit derselben Dosis infizierte Kontrolltiere nahmen bereits ab dem 22. Tag p.i. abrupt an Gewicht ab und starben nach weiteren 2 - 4 Tagen mit blutigem Durchfall.

Bei der Sektion aller infizierten Tiere fiel die Milz durch eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Größenzunahme (Tab. 17) und durch diffuse, bis zu stecknadelkopfgroße, lehmfarbene, trockene Gewebsbereiche makroskopisch auf. Mit Ausnahme des Hamsters Nr. 16672, in dessen vergrößerter Milz und Leber mikroskopisch keine Parasiten gefunden wurden, wiesen die inneren Organe aller übrigen Tiere Parasiten in einer Dichte von 3+ bis 5+ auf (Tab. 17).

Hamster Nr.	gestorben (Tage p.rei/p.i.)	Parasitendichte		rel. Milzgew. (%)
		Mi	Le	
a 16584	62	4+	4+	1,0
16587	83	3+	-	1,2
16590	81	4+	3+	1,9
16605	63	5+	4+	0,7
16672 ⁺	152	-	-	1,8
b 17133	70	5+	4+	0,8
17134	70	5+	4+	0,6
17135	61	5+	4+	0,9
17136	42	4+	4+	0,6
17137	50	5+	4+	0,8

Tab. 17: Parasitendichte (WHO-Graduierung) in Milz und Leber sowie rel. Milzgewicht der nach Reinfektion mit *L. donovani* (⁺ = 2. Reinfektion) verstorbenen Hamster (a) und der mit *L. donovani* infizierten Kontrollen (b)

Die histopathologische Untersuchung der inneren Organe des Hamsters Nr. 16672 ergab eine Amyloidose der Milz und eine Atrophie des lymphatischen Gewebes. In der Leber wurden perivaskuläre Granulome aus Makrophagen, Lymphozyten und z.T. aus untergehenden parasitären Gebilden gefunden. Histopathologisch konnte in der Niere eine glomeruläre Amyloidose, die Verkalkung der Basalmembran und eine tubuläre Eiweißausscheidung nachgewiesen werden.

Beim Vergleich des Körpergewichts der Tiere der Gruppe I (2) in Tab. 15 mit dem der Kontrollen fällt auf, daß sowohl in der Gruppe der reinfizierten Tiere als auch innerhalb der Kontrollgruppe die Gewichtskurven breit streuen (Abb. 8a u. b).

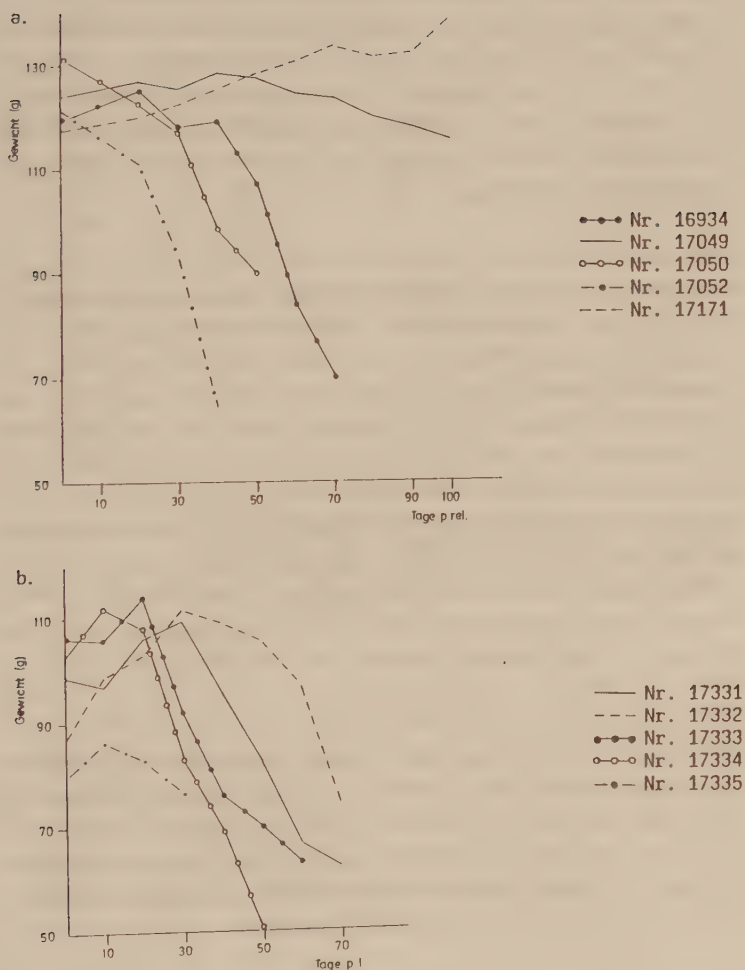


Abb. 8a und b: Entwicklung des Körpergewichts der mit *L. tropica* (Ve.) infizierten und *L. donovani* (O.) reinfizierten Hamster Nr. 16934 - 17171 (a) und der mit *L. donovani* infizierten Kontrollen Nr. 17331 - 17335 (b)

Ab dem 20. Tag p.i. verloren die Kontrollhamster an Gewicht und zeigten ab der 4. Woche p.i. dieselben Krankheitserscheinungen wie die Kontrolltiere der Gruppe I (1). Nach 30 Tagen p.i. starb das Tier Nr. 17335 mit Durchfall. Kurz vor dem Tod entwickelte sich bei 2 Tieren im Gesichtsschädel eine ausgedehnte derbe, haselnußgroße Umfangsvermehrung, die zuletzt die Augen miteinschloß (vgl. Kontrolltiere der Gruppe I (1)).

Zwei reinfizierte Tiere nahmen zwischen dem 50. und 70. Tag p.rei. deutlich an Gewicht ab und zeigten die den Kontrollen entsprechenden Symptome. Mit eitrigem Augen- und Nasenausfluß und unter Atemnot starb Tier Nr. 17052 am 30. Tag p.rei. Vom 20. Tag p.rei. an flammte beim Hamster Nr. 17171 die Entzündung der Lippe, wie sie nach einer *L. tropica*-Infektion entsteht, von neuem auf. Bei gutem Allgemeinbefinden überlebten die Tiere Nr. 17049 und 17171 als einzige die Reinfektion über einen Zeitraum von 100 Tagen.

Nach der erneuten, hochdosierten Reinfektion mit *L. donovani* verlor der Hamster Nr. 17171 ab dem 40. Tag an Gewicht und starb bereits 2 Tage später. Das zweite erneut reinfizierte Tier Nr. 17049 überlebte die Kontrolltiere, die in stark abgemagertem Zustand am 20. Tag p.i. mit Durchfall starben, um einen Monat und verendete am 48. Tag nach der 2. Reinfektion.

Die untersuchten Organe des nach der Erstinfektion überlebenden Tieres Nr. 17171 sowie der interkurrent gestorbenen Goldhamster Nr. 17335 (29 Tage p.i.) und Nr. 17052 (38 Tage p.i.) wiesen im Tupfpräparat mikroskopisch keine Parasiten auf. In der Milz aller übrigen infizierten Hamster wurden amastigote *Leishmania*-Formen in einer Dichte von 3+ bis 5+ gefunden (Tab. 18).

Die beiden zweimal reinfizierten Hamster Nr. 17049 und 17171 fielen durch eine stark vergrößerte, fleckig erscheinende Milz und eine ebenfalls vergrößerte, helle, im Anschnitt speckig-glänzende Niere auf. Die histologische Untersuchung ergab einen negativen Parasitenbefund in den Organen Milz und Leber sowie eine hochgradige Nierenamyloidose.

Hamster Nr.	gestorben (Tage p.rei/p.i.)	Parasitendichte		rel. Milzgew. (%)
		Mi	Le	
a 16934	70	4+	-	0,8
17049 ⁺	148	3+	-	1,6
17050	50	4+	3+	0,5
17052	38	-	-	0,8
17171 ⁺	142	-	-	1,4
b 17331	71	5+	4+	0,7
17332	70	4+	4+	0,8
17333	59	5+	4+	0,8
17334	49	5+	3+	0,6
17335	29	-	-	0,5

Tab. 18 : Parasitendichte (WHO-Graduierung) in Milz und Leber sowie rel. Milzgewicht der nach Reinfektion mit *L. donovani* (⁺ = 2. Reinfektion) verstorbenen Hamster (a) und der mit *L. donovani* infizierten Kontrollen (b)

Aus der Hamstergruppe I (Tab. 15) überlebten nach der Reinfektion mit *L. donovani* 3 Tiere, die übrigen starben in einem Zeitraum von 38 bis 83 Tagen p.i.. Alle Kontrolltiere verendeten zwischen dem 42. und 71. Tag p.i., mit Ausnahme des Tieres Nr. 17335, das vermutlich infolge einer interkurrenten Infektion bereits am 27. Tag p.i. starb. Die Überlebenszeit und -rate der reinfizierten und der als Kontrollen dienenden Hamster zeigt Abb. 9a und b.

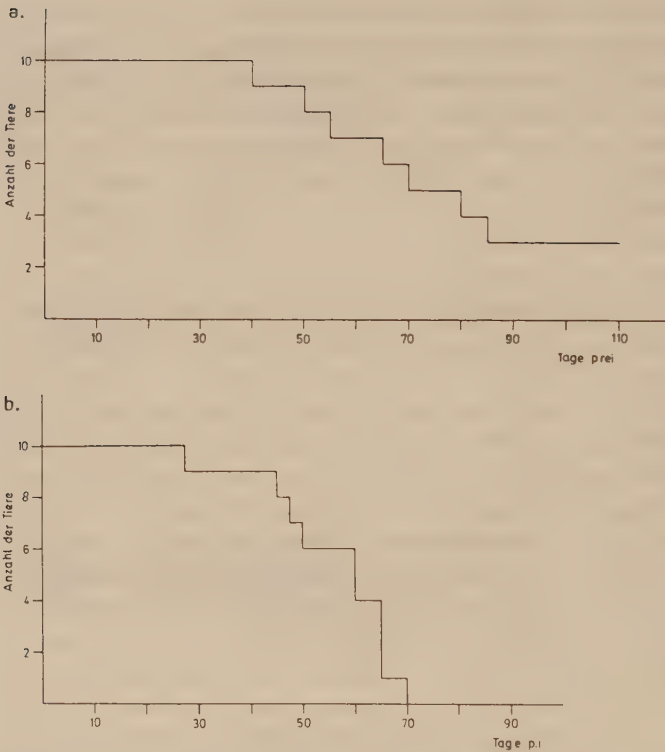


Abb. 9a und b: Überlebenszeit und -rate der 10 mit *L. tropica* infizierten und *L. donovani* reinfizierten Hamster der Gruppe I (1) und (2) (a) und der mit *L. donovani* infizierten Kontrolltiere (b)

Die Ergebnisse der parallel durchgeführten Untersuchungen mit Versuchstiergruppe II (Tab. 16), wo eine Superinfektion mit *L. donovani* während der akuten Phase der *L. tropica*-Infektion, d.h. in Anwesenheit lebender Amastigoten, gesetzt worden war, zeigten keine Abweichungen von den oben beschriebenen Ergebnissen der Versuchstiergruppe I.

Die nach intrakutaner Erstinfektion mit *L. tropica* gesetzte

Superinfektion (39 bzw. 49 Tage p.i.) mit *L. donovani* überlebten die beiden Tiere der Gruppe II, Nr. 17307 (Tab. 16/1/) und Nr. 17477 (Tab. 16/2/), über einen Zeitraum von 100 Tagen.

Nach dreifach höher dosierter, erneuter Herausforderung mit *L. donovani* wies der Hamster Nr. 17477 - im Gegensatz zu Tier Nr. 17307 - mikroskopisch keine Parasiten in Milz und Leber auf (138 Tage p. superi.).

Die Gewichtsentwicklung der Versuchstiergruppen I (Tab. 15) und II (Tab. 16) nach der Re- bzw. Superinfektion sowie der mit *L. tropica* bzw. *L. donovani* infizierten und der nicht infizierten Kontrollen wurde als arithmetische Mittelwerte dargestellt (Abb. 10).

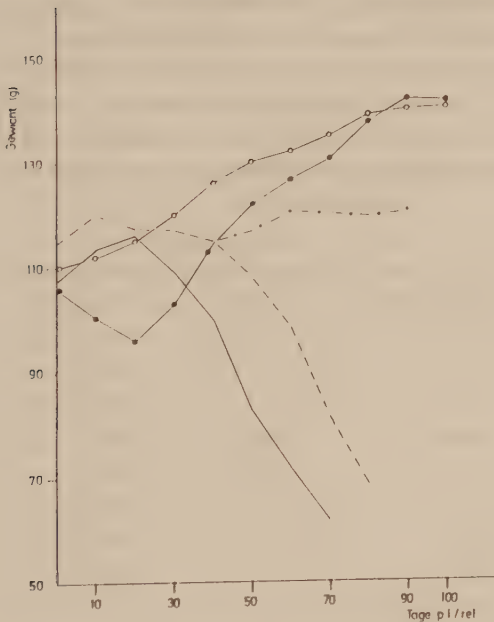


Abb. 10: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung der 10 mit *L. tropica* (●-●-●) bzw. 10 mit *L. donovani* (—) infizierten sowie der 20 mit *L. donovani* re- bzw. superinfizierten Hamster (---) u. der 5 davon überlebenden Tiere (-●-) ○-○-○ = nicht infizierte Kontrollen (n = 10)

Bei gesunden, nicht infizierten Hamstern stieg das Gewicht mit zunehmendem Alter kontinuierlich an, während nach *L. tropica*-Infektion das Gewicht nach 20 Tagen ein Minimum ("Knick"), nach 40 Tagen das Ausgangsgewicht und nach 3 Monaten das Gewicht der gesunden Tiere erreichte. Nach einer 2 bis 3-wöchigen Gewichtszunahme trat sowohl bei den *L. donovani*-infizierten als auch bei den re- bzw. superinfizierten Hamstern - allerdings mit einer zeitlichen Verschiebung - ein Gewichtsabfall ein. Die davon Überlebenden Tiere hielten wochenlang ein konstantes Gewicht.

2.2.2 Immunisierungsversuch *L. tropica* gegen *L. tropica*

- a. 6 Wochen nach der intrakutanen Reinfektion mit *L. tropica* (Ve.) wurden mit Ausnahme von 2 Goldhamstern (Nr. 17421, 17425), deren Lippe eine geringe bis mittlere entzündliche Schwellung aufwies und im Tupfpräparat Leishmanien in einer Dichte von 4+ (entsprechend den Kontrollen) enthielt, keine Parasiten im Unterlippenbereich nachgewiesen (Tab. 19).

Hamster Nr.	Erstinfektion <i>L. tropica</i> -Stamm	Parasitendichte (6 Wo. p.rei.)		
		Mi	Le	Li
17420	Ve.	-	-	-
17421	Ve.	-	-	4+
17422	Ve.	-	-	-
17423	Ve.	3+	-	-
17424	Ve.	-	-	-
17425	R.	-	-	4+
17426	B.	-	-	-
17427	N.	2+	-	-
17428	Vo.	-	-	-

Tab. 19: Bei Erstinfektion verwendete *L. tropica*-Stämme sowie Parasitendichte (WHO-Graduierung) im Tupfpräparat von Milz, Leber und Lippe der 90 Tage p.i. mit *L. tropica* (Ve.) i.c. reinfizierten und 6 Wochen p.rei. getöteten Hamster

Bei genauer Durchmusterung der Präparate konnten bei 2 Tieren (Nr. 17423, 17427) in der Milz wenige Amastigote in einer Dichte von 2+ bis 3+ gefunden werden; die intrakutane Überimpfung des gesamten Milzzellmaterials auf 2 Junghamster verursachte eine mittlere, entzündliche Schwellung der Unterlippe, in deren Tupfpräparat sich 6 Wochen p.i. Parasiten in einer Dichte von 4+ nachweisen ließen. Nach intraperitonealer Verimpfung der Milzzellsuspension konnten 6 Wochen p.i. bei den beiden Versuchstieren weder makroskopisch sichtbare Krankheitserscheinungen noch mikroskopisch Parasiten in Milz und Leber beobachtet werden.

- b. Nach der intraperitonealen Reinfektion mit L. tropica (Ve.) wiesen mit Ausnahme von 2 Goldhamstern (Nr. 17766, 17862) die Tupfpräparate der Organe Haut (Lippe), Hoden, Milz und Leber 8 Wochen p.rei. keine Parasiten auf (Tab. 20).

Hamster Nr.	Erstinfektion L. tropica-Stamm	Parasitendichte (8 Wo.p.rei.)			
		Mi	Le	Li	Ho
17750	B.	-	-	-	-
17766	Ve.	-	-	-	4+
17767	Ve.	-	-	-	-
17768	Ve.	-	-	-	-
17769	Ve.	-	-	-	-
17862	Ve.	3+	-	-	5+
17863	Vo.	-	-	-	-
17864	R.	-	-	-	-
17865	N.	-	-	-	-
17866	N.	-	-	-	-

Tab. 20: Bei Erstinfektion verwendete L. tropica-Stämme sowie Parasitendichte (WHO-Graduierung) im Tupfpräparat von Milz, Leber, Lippe und Hoden der 90 Tage p.i. mit L. tropica (Ve.) i.p. reinfizierten und 8 Wochen p.rei. getöteten Hamster

Die Tiere Nr. 17766 und 17862 verloren innerhalb des Untersuchungszeitraums deutlich an Gewicht und zeigten 6 - 8 Wochen p.rei. eine den Kontrolltieren entsprechende, entzündliche, bis walnußgroße Schwellung im Hodenbereich (vgl. Abb. 4). In beiden Hodentupfpräparaten wurde eine Parasitendichte von 4 + bis 5+, im Milztupfpräparat von Nr. 17862 eine Dichte von 3+ festgestellt. Nach intrakutaner bzw. intraperitonealer Überimpfung der Milzszellsuspension auf Jungtiere konnte 6 Wochen p.i. der Parasitenachweis in der Lippe (4+), nicht jedoch in den inneren Organen erbracht werden.

2.2.3 Milzzelltransfer von *L. tropica*-infizierten Goldhamstern auf Empfängertiere und nachfolgende *L. tropica*-/*L. donovani*-Infektion

6 Wochen nach der intrakutanen Infektion mit *L. tropica* (Ve.), die nach ein- oder mehrmaligem Milzzelltransfer erfolgte (Tab. 10), traten bei 9 der 10 Versuchstiere geringe bis starke entzündliche Schwellungen im Unterlippenbereich auf, z.T. mit Ulzerationen einhergehend. In den Tupfpräparaten der Lippe wurden Parasiten in einer Dichte von 3+ bis 4+ nachgewiesen (Tab. 21).

Hamster Nr.	Boosterungen	makroskop. Lippenbefund 6 Wo p.i.	mikroskop. Befund Li
I			
17159	2	mittl. Schwellung	3+
17160	2	ger. Schwellung	3+
17206	2	o.B.	3+
17207	2	mittl. Schwellung	4+
17208	1	ger. Schwellung	4+
17209	1	ger. Schwellung, Ulkus	3+
17210	1	mittl. Schwellung	4+
17214	-	mittl. Schwellung, Ulkus	3+
17215	-	starke Schwellung	4+
17216	-	mittl. Schwellung	4+

Tab. 21: Anzahl der Boosterungen mit Milzzellen *L. tropica*-positiver Hamster sowie makroskopische und mikroskopische Lippenbefunde der 28 Tage nach der ersten Milzzellübertragung vorgenommenen Infektion mit *L. tropica* (Ve.)

Die Versuchstiere der Gruppe II, die nach ein- oder mehrmaligem Milzzelltransfer intraperitoneal mit *L. donovani* (F.) infiziert wurden (Tab. 10), fielen vor ihrem Tod durch starke Abmagerung

und häufig blutigen Durchfall auf. Die Lebensdauer der Tiere der Gruppe II betrug 70 - 108 Tage; am längsten überlebten die Hamster Nr. 17217 - 219, denen insgesamt dreimal Milzzellmaterial übertragen wurde (Tab. 22).

Hamster	Boosterungen	Lebensdauer	Parasitendichte (p.m.)	
Nr.		(Tage p.i.)	Mi	Le
II				
17217	2	88	4+	3+
17218	2	95	4+	4+
17219	2	108	4+	-
17220	2	78	4+	3+
17336	1	78	5+	3+
17337	1	72	4+	4+
17338	1	73	5+	3+
17339	-	70	5+	4+
17340	-	76	5+	3+
17341	-	70	4+	3+

Tab. 22: Anzahl der Boosterungen mit Milzzellen *L. tropica*-positiver Hamster sowie Lebensdauer und Parasitendichte in Milz und Leber der 28 Tage nach der ersten Milzzellübertragung mit *L. donovani* (F.) infizierten Tiere

Alle mit *L. donovani* infizierten 10 Kontrolltiere starben im Zeitraum von 60 - 75 Tagen p.i. mit den bereits beschriebenen, *L. donovani*-typischen Symptomen. In den Organen Milz und Leber aller *L. donovani*-infizierten Tiere wurde eine Parasitendichte von 3+ bis 5+ festgestellt.

Die Entwicklung des Körpergewichts der nach Milzzelltransfer mit *L. donovani* infizierten und am längsten überlebenden Hamster Nr. 17217 - 219 der Gruppe II (Tab.22) sowie der 10 mit *L. donovani*

infizierten Kontrolltiere wurde als arithmetische Mittelwerte dargestellt (Abb. 11).

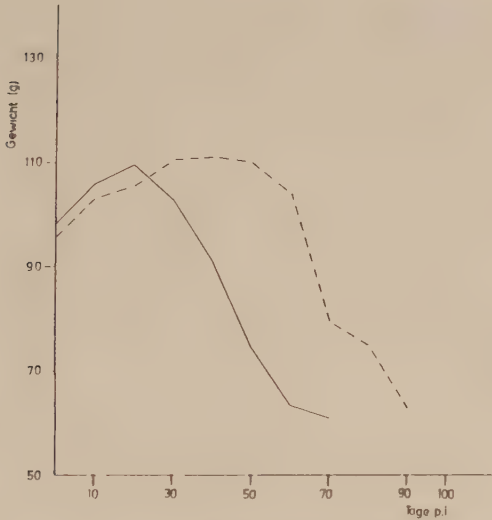


Abb. 11: Durchschnittliches Körpergewicht der nach Milzzelltransfer (*L. tropica*) mit *L. donovani* infizierten und am längsten überlebenden Tiere Nr. 17217 - 219 (---) sowie der *L. donovani* infizierten 10 Kontrollhamster (—)

Mit dem Einsetzen der Parasitenvermehrung bei den mit *L. donovani* infizierten Kontrollhamstern trat ein steiler Gewichtsabfall ein, während das Gewicht der *L. donovani*-infizierten Tiere Nr. 17217 - 219 nach Milzzelltransfer und zweimaliger Boosterung zwar mit Verzögerung, jedoch gleich steil abfiel.

2.3 Ergebnisse der Untersuchungen über Serumentikörper und Infektionsverlauf

Die Titerverlaufskurven von 10 mit *L. donovani* infizierten Tieren (Tab. 17b und 18b), von 10 weiteren mit *L. tropica* infizierten Goldhamstern (Tab. 3 und 15/1/) sowie der Tiere Nr. 17171 (Tab. 15/2/) und Nr. 17422 (Tab. 19) wurden im IFAT untersucht (Abb. 12).

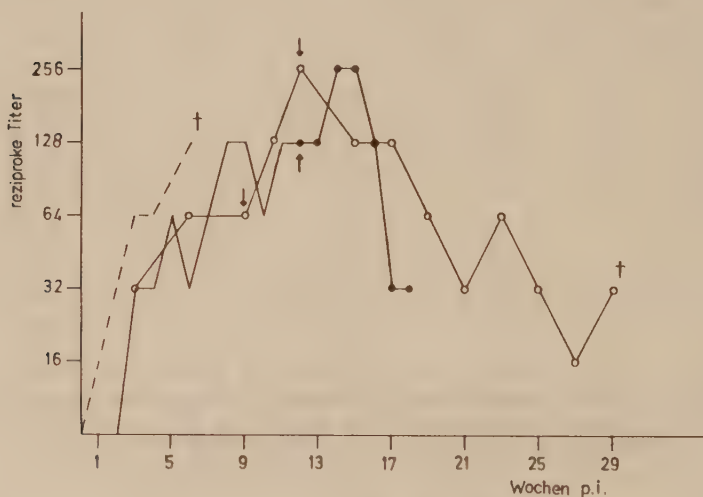


Abb. 12: Titerverlauf im IFAT von *L. tropica* und *L. donovani* infizierten Hamstern sowie der reinfizierten Tiere Nr. 17171 und 17422

--- *L. donovani* (Mittelwert von 10 Tieren)

— *L. tropica* (Mittelwert von 10 Tieren)

○—○ *L. tropica*/*L. donovani* (↓) reinfiziertes Tier
Nr. 17171

●—● *L. tropica*/*L. tropica* (↑) reinfiziertes Tier
Nr. 17422

Bereits in der 2. Woche traten im Serum der 10 mit *L. donovani* (Stamm "O.") infizierten Versuchstiere ein durchschnittlicher Antikörpertiter von 1 : 32 auf. Bis zum Zeitpunkt der beginnenden Abmagerung (4 - 5 Wochen p.i.) stiegen die Serumentikörper konti-

nuierlich an und erreichten kurz vor dem Tod der Tiere (42 - 48 Tage p.i.) einen Wert von 1 : 128.

Die 10 mit L. tropica (Stamm "Ve.") infizierten Goldhamster wiesen Antikörpertiter von 1 : 32 ab der 3. Woche p.i. auf, wo die entzündliche Lippenschwellung in ein bis zu linsengroßes Ulkus überging. Während der Abheilungsphase (6 - 8 Wochen p.i.) stiegen die Serumantikörper im IFAT bis zu einem Titer von 1 : 128 und blieben, außer einem kurzzeitigen Abfall (10 Wochen p.i.), bis zur vollständigen Vernarbung des Geschwürs (11 Wochen p.i.) unverändert. Trotz auftretender entzündlicher Schwellungen und Ulzerationen der Lippe wiesen 3 mit dem Stamm "R." intrakutan infizierte Hamster (Tab. 3) über einen Zeitraum von 10 Wochen keine im IFAT meßbaren Antikörpertiter auf.

Nach Abheilung des durch *L. tropica* hervorgerufenen Ulkus und vor der Reinfektion (↓) mit *L. donovani* des Tieres Nr. 17171 (Tab. 15/2/) in der 9. Woche p.i. zeigte es im IFAT einen Antikörpertiter von 1 : 64, der in der 3. Woche p.rei. das Maximum von 1 : 256 - einhergehend mit einem Wiederaufflammen des Lippenulkus - erreichte. Trotz der dann gesetzten zweiten (↓) Reinfektion (12. Woche p.i.) in dreifach höherer Dosis fiel der Antikörpertiter stufenweise ab und erreichte in der 29. Woche p.i. einen Wert von 1 : 32.

Auch das nach Überwundener Hautleishmaniasis mit *L. tropica* bei einem Titer von 1 : 128 (↑) reinfizierte (12. Woche p.i.) Tier Nr. 17422 (Tab. 19) wies 2 Wochen p.rei. einen Titeranstieg um eine Verdünnungsstufe (1 : 256) auf. Danach fiel der Titer innerhalb von 2 Wochen um 3 Stufen auf 1 : 32 (17. Woche p.i.) ab.

IV. Besprechung der Ergebnisse

Zahlreiche Disziplinen der Leishmania-Forschung können auf den Einfluß eines lebenden Trägerorganismus in der Auseinandersetzung mit dem Erreger keinesfalls verzichten. Wie bereits STAUBER (1958 a) in seinen chemotherapeutischen Studien auf den Experimentalwirt verwies, vermögen auch heute die in vitro-Methoden das Versuchstier noch immer nicht zu ersetzen. Dies gilt gleichermaßen für die bei Leishmania-Infektionen vorherrschende zellvermittelte Immunantwort sowie die damit verwandten Untersuchungen der Zyto- und Immunpathologie. Desweiteren bietet der Tierversuch unter Berücksichtigung wirtsinduzierter, biologischer Merkmale die Möglichkeit, die topische Präferenz eines Stammes zu überprüfen und dessen Merkmalskatalog zu erweitern (KRAMPITZ, 1983).

Wie bereits MAUEL und BEHIN (1982) feststellten, ist das Modelltier für Leishmania-Infektionen, das dem humanen Phänomen gerecht wird, bis heute nicht gefunden, da speziesspezifische Organpräferenzen und Vermehrungsaktivitäten der Parasiten und genetisch bedingte Empfänglichkeitsunterschiede der infizierten Wirtsorganismen bestehen.

Als Versuchstier wurde der Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) gewählt, da er für die beiden verwendeten Leishmania-Arten empfänglich ist und ihnen hohe Vermehrungsraten gestattet. Zudem ist der Goldhamster den ingezüchteten Mausestämmen insofern vorzuziehen, als er nach Infektion mit *L. tropica* eine begrenzte Hautleishmaniasis entwickelt, die nach einem gewissen Zeitraum abheilt (KRAMPITZ et al., 1977). Demgegenüber entwickeln Balb/c-Mäuse ausgedehnte, nicht heilende Ulcera, die einen fatalen Infektionsverlauf mit Generalisierung nach sich ziehen (NASSERI und MODABBER, 1979).

Im Verlauf der Untersuchungen konnte bestätigt werden, daß die fünf aus "Orientbeulen" des Menschen isolierten und dem *L. tropi-*

ca-Komplex zugeordneten Erregerstämme ("Ve.", "N.", "B.", "R." und "Vo.") auch im Goldhamster reine Hautbewohner blieben. Die aus Organpunktaten (Milz, Leber) Italienreisender gewonnenen Erregerstämme "F." und "G." siedelten sich entsprechend der klinischen Symptomatik der Patienten ausschließlich viszeral im Versuchstier an. Eine Sonderstellung nahm der Maltastamm "O." ein, der zwar aus menschlichen Hautulzera isoliert wurde, jedoch seit 9 Jahren intraperitoneal in Rötel- und Goldhamsterpassagen gehalten wird. Nach dem Verhalten im Labortier steht der Stamm zwischen den konventionellen Arten *L. donovani* und *L. tropica*; er wurde aufgrund seiner geographischen Herkunft (Mittelmeer) und der Tatsache, daß der Patient bei der serologischen Untersuchung im IFAT (KRAMPITZ et al., 1981) einen deutlich positiven Titer aufwies, dem *L. donovani*-Komplex zugeordnet.

In der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich mit amastigoten Formen von *L. tropica* und *L. donovani* gearbeitet, die im Rahmen von Vorversuchen in der angegebenen Dosierung (10^{-1} g Organmaterial/ml) ein sicheres Angehen der Infektion und das Überleben der infizierten Tiere über einen bestimmten Zeitraum gewährleisten. BLACKWELL und ALEXANDER (1983) sowie MAUEL (1984), die die Aufnahme von Leishmanien und deren Verhalten im Makrophagen untersuchten, stellten fest, daß Amastigote der intrazellulären Veranordnung durch Unterdrückung des "respiratory burst" in höherem Maße als Promastigote entgehen können. Auch die Untersuchungen von KEITHLY (1976) unterstützten die Angaben über eine höhere Infektiosität von amastigoten gegenüber promastigoten Leishmania-Formen beim Goldhamster.

Die Bestimmung der Parasiten im infektiösen Inokulum, die über die Gleichbemessung von Infektionsvolumina unter mikroskopischer Kontrolle der Parasitendichte entsprechend der durch die WHO (1983) festgesetzten Graduierung erfolgte, läßt zwar keine absolute quantitative Angabe zu, jedoch den Vergleich der Ergebnisse innerhalb einer Versuchsreihe. Die Bedeutung des quantitativen Moments unterstreichen die Untersuchungen von STAUBER (1955) und

OTT et al. (1967), die in Abhängigkeit vom Inokulum eine unterschiedlich hohe Parasitendichte von *L. donovani* in den inneren Organen feststellten. Auch PRESTON und DUMONDE (1976) beschrieben eine Dosis-Wirkungsbeziehung; je höher das Inokulum dosiert wurde, um so schneller und ausgeprägter entwickelte sich die Hautläsion, und desto früher traten Antikörpertiter bei mit *L. tropica* infizierten CBA-Mäusen auf.

Nach der experimentellen Infektion von Goldhamstern mit den dem *L. tropica*-Artkomplex zugeordneten Stämmen in die Unterlippe zeigten sich in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von KRAMPITZ et al. (1977) die beschriebenen Krankheitserscheinungen. Trotz der Beachtung der WHO-Vorschriften (1983), die Gewebeproben zur Isolierung von *L. tropica* möglichst steril zu entnehmen, wurden immer wieder Sekundärinfektionen des infizierten Lippengewebes beobachtet. Die Inokulation der Hautstämme führte zu eitrig infizierten Hautulzera und Abszessen im Hals- und Brustbereich, ja sogar zur lebensbedrohlichen Septikämie, wie sie auch DOBRZHZANSKAYA (1977) bei experimentellen Hautleishmaniasen von Mäusen feststellte. Es besteht die Möglichkeit, durch zwischengeschaltete in vitro-Passagen die bakterielle Begleitkomponente zu beseitigen, jedoch ergaben die Untersuchungen von SEMPREVIVO et al. (1981) mit *L. donovani*, daß die Promastigoten hierbei an Infektiosität einbüßen.

Das niedrig dosierte Antibiotikum Gentamycin (1/3 der von SCHEFFER (1980) angegebenen Dosis) als Suspensionszusatz hatte keine Auswirkung auf die Ulkusbildung, führte jedoch zu einer Verzögerung des Infektionsverlaufs. Als Ursache für diese Verzögerung der Leishmanienvermehrung in loco können zwei Möglichkeiten in Betracht gezogen werden. Entweder übt das Gentamycin einen direkten Einfluß auf die Vermehrungsrate der Parasiten aus, wie SCHÜLE et al. (1974) diskutierten, oder das Antibiotikum löscht lediglich die begleitende Bakterienflora aus, die erfahrungsgemäß mit den Parasiten eine Art Infektionsgemeinschaft bildet (SCHEFFER, 1980).

Nach intraperitonealer Verabreichung verschiedener in den *L. donovani*-Artkomplex eingereihten Stämme zeigte sich bereits der von

OTT et al. (1967) beschriebene fulminante Infektionsverlauf mit den aufgeführten Krankheitserscheinungen. Die ausschließliche Ansiedlung der Parasiten in den Viszera des Goldhamsters bestätigte die Zugehörigkeit der Stämme "F." und "G." zum *L. donovani*-Artkomplex.

Die Beobachtungen an mit *L. donovani* infizierten Kontrolltieren stimmten mit den von WEBER (1977) beschriebenen Ulzerationen und Gewebse Nekrosen in der Nasen- und Lippenregion überein. Nach deren Struktur und Lokalisation bestand eine Ähnlichkeit mit dem klinischen Bild der "Espundia" (Schleimhautleishmaniose) des Menschen bzw. der späten Hautlokalisation nach Art des Post-Kala-Azar-Leishmanoids; jedoch mangelte es regelmäßig an einem Parasitenbefund im Tupfpräparat. Demnach ist eine parasitäre Infektion als Ursache dieser Veränderungen auszuschließen. Allerdings besteht die Möglichkeit, daß die vorausgegangene *L. donovani*-Infektion zu einer Immunsuppression der Tiere führte, die das Angehen einer bakteriellen Infektion ermöglichte. Den Beweis für die Bedeutung von Suppressor-T-Zellen im Infektionsgeschehen erbrachten die Studien von BLACKWELL und ULCZAK (1984) an der Mausinzuchtlinie B 10.D 2/n, die eine experimentelle *L. donovani*-Infektion nicht überwinden kann.

Die bei männlichen Tieren auftretende Vergrößerung von Hoden und Nebenhoden nach der intralientalen Injektion von Promastigoten eines *L. tropica*-Stammes israelischer Herkunft (SCHNUR et al., 1973) stimmen mit den hier gemachten Beobachtungen überein (Abb. 4, 5). Wie auch SCHNUR et al. (1973) in Untersuchungen mit dem israelischen *L. tropica*-Stamm feststellen konnten, traten bei den Goldhamstern, die mit dem saudi-arabischen *L. tropica*-Stamm "Ve." infiziert wurden, außer den Nebenhodenveränderungen kryptische Infektionen der tiefen Viszera Milz und Leber auf.

Von Beginn dieses Jahrhunderts bis zur Gegenwart wurde in Experimenten am Infektionsmodell Labormaus - *L. tropica* (nach intraperitonealer Verabreichung) immer wieder eine wechselnde topische Präferenz des Erreges beobachtet. In den Ausführungen von LECLERC et al. (1981) besteht bei verschiedenen Mäusestämmen eine unter-

schiedliche Tendenz zur "Generalisation", treffender wäre wohl die Formulierung Viszeralisation, die sich in klinischen Symptomen wie Hepatosplenomegalie und Kachexie manifestiert. Die "Generalisation", wie sie bereits GONDER (1913) feststellte, wurde erst von SCHEFFER (1980) in haarlosen Labormäusen (nu/NMRI) weiteruntersucht und - in Übereinstimmung mit den vorliegenden Ergebnissen - herausgestellt, daß es nicht gelingt, einen Substamm mit konstanter Viszerotropie von *L. tropica* abzutrennen, wie sie für den *L. donovani*-Artkomplex typisch ist. Es läßt sich vermuten, daß einzelne Parasiten des intraperitoneal verabreichten Inokulums auf dem Lymphweg in die inneren Organe streuen, dort jedoch nicht zur weiteren Vermehrung befähigt sind.

Auch die scharf begrenzte Wunde im Tegument der Flanke eines weiblichen Hamsters (Abb. 6), mehrere Zentimeter von der Injektionsstelle entfernt, kann als Folgeerscheinung der lymphogenen Streuung von *L. tropica*-Erregern in die Bauchhaut und deren Vermehrung unter Ulkusbildung gedeutet werden.

Im Versuch, viszerotrope Stämme intrakutan zu verimpfen, nahm der der Unterart *L. donovani infantum* zugeordnete Stamm "O.", der aus Hautulzera eines Ferienreisenden aus Malta isoliert wurde, eine Sonderstellung ein. In den Untersuchungen von WEBER (1977) vermehrte sich dieser Stamm von der ersten Labortierpassage an ausschließlich und beständig in den inneren Organen und gelangte sekundär über die Viszera in die Haut. Demgegenüber gelang nun der Versuch, den Maltastamm durch direkte Injektion in das Unterlippengewebe dort zur Ansiedlung zu bringen.

Die Tatsache, daß auch *L. donovani* als Primärläsion beim Menschen eine "Orientbeule" hervorrufen kann, ist durch Berichte von CAHILL (1964) aus dem Sudan bekannt geworden. LANOTTE et al. (1981), die bei der Untersuchung verschiedener Leishmanienisolate Übereinstimmungen im Enzymmuster von *L. tropica* und *L. donovani infantum* fanden, erwogen die Möglichkeit einer durch *L. donovani infantum* verursachten reinen Hautleishmaniasis des Menschen. In den Tierversuchen mit dem Maltastamm "O." ließ sich ein rein dermatotroper Stamm nicht kultivieren. Außerdem könnte die jahrelange Passagie-

rung des Parasitenstammes im Goldhamster ohne Zwischenschaltung des wirbellosen Vektors zur Ausbildung einer Stammvarianten geführt haben, die die Fähigkeit entwickelte, sich auch intrakutan zu vermehren (KRAMPITZ et al., 1977).

Im Zusammenhang mit der Fragestellung, worauf die deutliche Organbevorzugung der Leishmania-Arten unabhängig von der Wirtsart beruht, fand die Seruminkubation der Erreger bereits Anwendung. Die Ausführungen von REZAI et al. (1973), die den Nachweis einer Wachstumshemmungsaktivität von Normaltierseren auf *L. tropica*-Erreger erbrachten, stimmten mit der Aussage der Untersuchungen von HOOVER et al. (1984) überein, daß menschliche Normalseren über den alternativen Weg der Komplement-Aktivierung einen cytotoxischen Effekt auf Amastigote von *L. tropica* ausüben. Bisher wurde der Serumeinfluß auf die Parasiten in vitro anhand deren Umwandlung vom Amastigoten- in das Promastigotenstadium oder deren Fähigkeit, humane Monozyten zu infizieren, untersucht. Das hier beobachtete "Auslöschphänomen" von *L. tropica* nach Inkubation in menschlichem Normalserum im Tierversuch bestätigte die in vitro-Ergebnisse von HOOVER et al. (1984) und könnte die Restriktion der Parasiten auf den Inokulationsort erklären. Die fehlende oder nur geringe Wirkung von Humanserum auf *L. donovani*-Amastigote dagegen, die auch PEARSON und STEIGBIGEL (1980) in vitro nachwiesen, könnte die Ursache für die Generalisierung derselben sein. Beim Hund ist keine eigenständige Hautleishmaniasis bekannt, eine Tatsache, die das Ergebnis des Inkubationsversuchs in vivo durch einen mikroskopisch und makroskopisch nicht erkennbaren Serumeinfluß auf die Parasiten unterstützte. Das Hamsterserum hat keine Auswirkungen auf die Parasiten, so daß der Gewebstropismus der Leishmanien beibehalten wurde. In der Frage, weshalb sich Menschen-, Hunde- und Hamsterseren in ihrer Fähigkeit unterscheiden, den *L. tropica*-Erreger zu inaktivieren, sollten die Serumkomplementfaktoren der verschiedenen Wirtsspezies weiteruntersucht werden.

Die empirische und kasuistische Literatur kann keine klare Auskunft darüber geben, ob Leishmanienstämme, die im Menschen als benigne Hautbewohner auftreten, gegen die Re- oder Superinfektion mit pathogenen, die inneren Organe besiedelnden Stämmen des *L. donovani*-Komplexes schützen können. In der Fragestellung der Immunitätsausbildung gegen viszerale Leishmaniasis stellt der Goldhamster das geeignete Tiermodell dar, wie FARRELL (1976) in seinen Studien bestätigte. Dieser Experimentalwirt ist insofern geeignet, als er nach der *L. tropica*-Infektion eine lokal begrenzte Erkrankung entwickelt und sie nach einem gewissen Zeitraum überwindet.

Aus den Versuchstierergebnissen kann man entnehmen, daß sich bei einem Teil der re- und superinfizierten Goldhamster aufgrund von individuellen Abwehrmaßnahmen ein labiler Gleichgewichtszustand zwischen Wirt und Parasit eingestellt hat. Wie auch FARRELL (1976) im Rahmen seines Immunisierungsversuches *L. donovani* gegen *L. donovani* vermutete, kann dieses Gleichgewicht auf eine Aktivierung der Makrophagen durch den Antigenstimulus zurückgeführt werden. Die Reduzierung der Parasitenvermehrung durch aktivierte Makrophagen, deren Wirkungsmechanismus MAUEL (1984) untersuchte, könnte die verlängerten Überlebenszeiten einzelner Versuchstiere erklären.

Die unnatürlich hochdosierte, erneute Reinfektion führte dazu, daß in 3 der 5 Fälle nicht die direkte Einwirkung des Parasiten (negativer Parasitenbefund der Milz und Leber), sondern die funktionelle Schädigung der Niere - wie sie auch AGU et al. (1981) beim Hamster beobachteten - in Form einer hochgradigen Nierenamyloidose den Tieren zum Verhängnis wurde. Nach TIZARD (1981) wird Amyloid - bereits von GELLHORN et al. (1946) nach viszeraler Leishmaniasis-Infektion des Goldhamsters beschrieben - auf einen Antigenreiz hin gebildet, der die Kapazität des Immunsystems überschreitet. Der Histopathologe diagnostizierte in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von VERESS et al. (1983) eine Milzamyloidose, außerdem eine Atrophie des lymphatischen Gewebes, was auf eine Erschöpfung der Immunzellzentren hindeutet.

Der Versuch, Goldhamster nach experimenteller Hautleishmaniasis gegen die nachfolgende viszerale Leishmaniasis zu immunisieren, resultierte in einer z.T. deutlich verlängerten Überlebenszeit der Versuchstiere, die auch COOK et al. (1982) im Immunisierungsversuch *L. donovani* gegen *L. donovani* nach Verabreichung von Glukan-behandelten, abgetöteten *L. donovani*-Promastigoten feststellten. Eine belastbare Immunität, die sich in einem vollständigen Schutz ausdrückt, ließ sich jedoch nicht erreichen.

Die Hautleishmaniasis wird allgemein als das treffendste Modellbeispiel für zellgebundene Immunität bei parasitären Infektionen bezeichnet (SOULSBY, 1970; ZUCKERMAN, 1975). Im Gegensatz zum Menschen findet man in der Literatur keine tierexperimentellen Studien, die eine stabile Immunität gegen die Reinfektion mit *L. tropica* nach Überwindener Hautleishmaniasis beweisen. GLAZUNOVA (1968), die während akuter Hautleishmaniasis (Lippe) Goldhamster mit *L. tropica* in den Fußballen reinfizierte, beobachtete dort Veränderungen, die von denen der Primärinfektion nicht abwichen. Nach Überwindener Hautleishmaniasis hingegen erwiesen sich in den vorliegenden Untersuchungen 80 % der Tiere gegenüber der intrakutanen und der intraperitonealen Reinfektion mit einem homologen oder heterologen Erregerstamm als refraktär. Man könnte dieses Ereignis als "Auslöschphänomen" bezeichnen; die Goldhamster entwickelten eine lokale Immunität, die sich in einem Nichtangehen der Reinfektion ausdrückte. Dieses Versuchsergebnis stimmt nicht mit der beim Menschen gemachten Beobachtung überein, daß es eine Kreuzimmunität nur bei Stammvarianten gibt, die von geringerer Virulenz sind als die immunisierende (HEYNEMAN, 1971).

Von Parasiten, die sich nach der homologen Reinfektion - vermutlich auf lymphogenen Weg - in die Milz flüchteten, ließ sich kein Substamm mit ausschließlicher und konstanter Viszerotropie abtrennen, so daß mit einer Viszeralisation der zur Immunisierung verwendeten, lebenden *L. tropica*-Stämme nicht gerechnet werden muß.

Mehrere Berichte in der Literatur, die auf den Milzzelltransfer als Möglichkeit zur Übertragung von Immunzellen bei *Babesia microti* und *B. rodhaini* hinweisen (RUEBUSH und HANSON, 1980; ZIVKOVIC et al., 1984), rechtfertigen die Überlegung, daß Milzzellmaterial von Tieren, die eine *L. tropica*-Infektion überwunden haben, einen Einfluß auf die nachfolgende *Leishmania*-Infektion ausübt. Im Anschluß an eine überstandene Hautleishmaniasis mit ausgeprägter lokaler Immunität gegen gleichartige Reinfektionen bot sich geradezu der Versuch an, Milzzellen solcher Tiere passiv intraperitoneal zu übertragen und dann die Belastbarkeit der Empfängertiere nach Herausforderung, vor allem mit *L. donovani*, zu überprüfen.

Die in der Milzzellsuspension vermuteten T-Lymphozyten sind die wichtigsten Träger des immunologischen Gedächtnisses mit Helferwirkung bei der Antikörperbildung, der direkten Zytotoxizität und der Lymphokinbildung (ROLLE und MAYR, 1978). Nach ZIVKOVIC et al. (1984) hängt der Erfolg einer Immunitätsübertragung von der Dosis der transferierten Immunzellen ab, die möglichst intravenös oder beim Goldhamster intrakardial appliziert werden sollten. Auf diesem Weg wären allerdings beim Kleinnager gefahrlos nur verhältnismäßig kleine Volumina zu verabfolgen (KRAMPITZ, 1983). Diejenigen Tiere, die dreimal Milzzellsuspensionen von gegen *L. tropica*, Stamm "Ve.", immunen Spendern erhalten hatten, zeigten im Vergleich zu den Kontrolltieren um ca. 3 Wochen verlängerte Überlebenszeiten, wenn sie mit *L. donovani* (Stamm "O.") herausgefordert wurden. Unter Berücksichtigung der intraperitonealen Verabreichung der Milzzellen könnte dieses Ergebnis auf eine unspezifische Stimulierung der Phagozytosefähigkeit zurückgeführt werden, wie sie mit Zellmaterial der verschiedensten Herkunft erreicht werden kann (BUSCHMANN, 1984).

Obwohl nach mehrfacher Milzzellübertragung keine Versuchstiere ausfielen, sollte man hierbei die Möglichkeit einer induzierten Immunkomplexbildung (Arthus-Phänomen) in die Überlegungen miteinbeziehen.

Nicht nur Fragen zur zellulären, sondern auch zur humoralen Immunantwort auf *Leishmania*-Infektionen waren untersuchenswert, da

dieses Phänomen beim Goldhamster bisher nur lückenhaft in der Literatur behandelt ist.

Die unkomplizierte, lokal begrenzte und selbstheilende Hautleishmaniasis des Menschen zeigt keine diagnostischen Antikörpertiter, da sie nach KRAMPITZ et al. (1981) den Erkennungs- und Abwehrapparat des Körpers nicht nachhaltig genug herausfordert, um ihn zur Bildung humoraler Antikörper in meßbarer Höhe zu veranlassen. Abweichende Beobachtungen findet man in Untersuchungen von EDRISSIAN et al. (1981) aus dem Iran, die von diagnostisch verwertbaren Antikörpertitern bei unkomplizierter Hautleishmaniasis berichteten, was mit einer größeren Antigenität persischer Stämme zusammenhängen könnte. Drei mit dem nordafrikanischen *L. tropica*-Stamm "R." intrakutan infizierte Goldhamster lieferten den Beweis für eine solche Annahme stammspezifischer Unterschiede in der Fähigkeit, Antikörper zu provozieren. Trotz ausgeprägter Ulzeration wiesen die Tiere keine diagnostischen Serumantikörpertiter im IFAT auf. Demgegenüber entwickelten die mit dem saudi-arabischen *L. tropica*-Stamm "Ve." infizierten Hamster gleichzeitig mit der Ulkusbildung an der Unterlippe im IFAT Antikörpertiter (21 Tage p.i.), die in Übereinstimmung mit der serologischen Untersuchung von CAMPOS-NETO und BUNN-MORENO (1982) auch während des Vernarungsstadiums des Lippenulkus persistierten.

Mit *L. donovani infantum* (Stamm "O.") infizierte Tiere fielen durch das frühe Ansteigen von Antikörpern (7 - 14 Tage p.i.) auf, was damit erklärt werden könnte, daß *L. donovani* auf dem Blutweg zu den Zielorganen gelangt.

Im Goldhamster führte die Reinfektion mit *L. donovani* nach überwundener Hautleishmaniasis zur verstärkten Bildung von Antikörpern im Serum. Die zweite hochdosierte Herausforderung hatte keinen weiteren Serumantikörperanstieg zur Folge; der Abwehrapparat scheint überfordert, eine Tatsache, die sich in der Atrophie des lymphatischen Gewebes ausdrückte und damit die Erschöpfung der Immunzellbildung erklärt.

Auch bei Verabfolgung derselben Erregerspezies wurden höhere Maximaltitere schneller erreicht (Boostereffekt). Der nach der Reinfektion eintretende Abfall der Serumantikörper bestätigte den

negativen parasitologischen Befund.

Entgegen den Annahmen von STAUBER (1963) und ADLER (1965) läßt sich zusammenfassend sagen, daß sich der Goldhamster in dieser orientierenden Studie als fähig erwies, eine im IFAT mit *L. donovani*-Antigen meßbare humorale Immunantwort sowohl nach *L. tropica* als auch nach *L. donovani*-Infektion zu bilden.

V. Zusammenfassung

1. Fünf dem *L. tropica*- und 3 dem *L. donovani*-Komplex zugeordnete menschliche, Goldhamster i.c. in die Lippe oder i.p. verimpfte Stämme verursachten einen erregerartspezifischen Krankheitsverlauf, d.h. die topische Präferenz der *Leishmania*-Arten blieb im Hamster erhalten.
2. Mit verschiedenen *L. tropica*-Stämmen i.p. infizierte männliche Goldhamster wiesen entzündliche, häufig ulzerierende Hodenschwellungen auf, in denen sich massenhaft Parasiten nachweisen ließen.
3. Bei Goldhamstern, die mit dem Stamm "O." (Malta; *L. donovani*-Komplex) i.c. infiziert wurden, traten entzündliche Lippen-schwellungen und Ulzera mit Parasiten im veränderten Gewebe auf. Dieser Stamm zeigte damit bezüglich seiner Organwahl ein intermediäres Verhalten.
4. Nach i.c. Infektion von mit menschlichem Serum inkubierter *L. tropica*-Suspension zeigten die Hamster weder makroskopisch noch mikroskopisch erfaßbare Lippenveränderungen, während 60 % der mit seruminkubierter *L. donovani*-Suspension i.p. infizierten Tiere parasitologisch positiv wurden. *L. tropica* ist also durch Inkubation mit menschlichem Normalserum in seiner Vermehrung negativ zu beeinflussen, *L. donovani* dagegen nicht.
5. Von 20 Hamstern, die nach *L. tropica*-Infektion mit *L. donovani* (Stamm "O.") infiziert wurden, überlebten 5 Tiere. Nach erneuter Herausforderung (100 Tage p.rei.) verendeten alle Tiere, jedoch im Vergleich zu den Kontrollen deutlich verzögert; 3 der 5 Tiere wiesen mikroskopisch und histologisch keine Parasiten in Milz und Leber auf. Es gelang somit nicht, den Goldhamster mit *L. tropica* gegen *L. donovani* zu immunisieren, jedoch ergaben sich günstigere Gewichtsentwicklungen und deutlich verlängerte Überlebenszeiten gegenüber den Kontrollen.

6. Nach Abheilung der *L. tropica*-Infektion der Lippe wurden je 10 Tiere i.c. bzw. i.p. mit *L. tropica* (Stamm "Ve.") reinfiziert; bei je 8 Tieren ergaben sich kein makroskopischer und mikroskopischer Befund im Lippen- bzw. Hodengewebe. Die Entwicklung einer lokalen Immunität darf vermutet werden.
7. Zwei Gruppen von Goldhamstern wurde Milzzellsuspension von *L. tropica*-infizierten und parasitologisch positiven Tieren i.p. verabreicht und anschließend mit *L. tropica* bzw. *L. donovani* infiziert. 6 Wochen p.i. wurden Parasiten in der Lippe bzw. in den Viszera nachgewiesen; am längsten überlebten *L. donovani*-infizierte Tiere, die mehrfach Milzzellsuspensionen erhalten hatten.
8. Mit *L. donovani* ("O.") infizierte Hamster wiesen bereits in der 2. Woche p.i. im indirekten Immunfluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT) Antikörpertiter von 1 : 32 auf, die in der Agonie der Tiere bis auf 1 : 128 (6 - 7 Wochen p.i.) anstiegen.
Ab der 3. Woche p.i. traten bei mit *L. tropica* ("Ve.") infizierten Hamstern Antikörpertiter von 1 : 32 auf, die bis auf 1 : 128 (8 Wochen p.i.) anstiegen und bis zur Vernarbung des Lippennulcus (11 Wochen p.i.) persistierten. Im Gegensatz zum Menschen mit unkomplizierter Orientbeule konnten die gleichen Erreger beim Goldhamster eine im IFAT meßbare humorale Immunantwort provozieren.

Ackermann, I.: Experimental transmission of *Leishmania* from human infection to Syrian hamsters with special respect to organotropism and immunity.

Summary

1. In Syrian hamsters intracutaneous application of five human strains of *L. tropica* into the lip and intraperitoneal application of three strains of *L. donovani* caused a parasite-specific infection, i.e. the topical preference of *Leishmania* species continued to exist.
2. Male Syrian hamsters which were infected i.p. with *L. tropica* developed inflammatory, often ulcerating swelling of their testicles. A large amount of parasites was microscopically identified.
3. Syrian hamsters infected i.c. with the strain "O." (Malta) which is associated with the *L. donovani* complex, demonstrated swelling of their lips and ulcers containing numerous parasites. Consecutively the strain showed intermediary behaviour concerning to its organotropism.
4. After i.c. infection of *L. tropica* suspension incubated with human serum, the hamsters showed neither macroscopic nor microscopic lip findings, whereas 60 % of the animals receiving incubated suspension of *L. donovani* became parasitologically positive. So *L. tropica* can be influenced negatively in its growth by incubation with human serum, not though *L. donovani*.
5. Five of 20 hamsters survived infection with *L. donovani* strain "O." (Malta) after infection of *L. tropica*. After repeated reinfection (100 days p.rei.) all animals died, though significantly delayed in comparison with the controls. Three of the 5 animals showed no parasites microscopically or histologically

in spleen and liver. It was not possible to immunize with *L. tropica* against *L. donovani*, but there was a good development of weight and significantly prolonged mean survival time in comparison to the controls to be achieved.

6. Following healing of *L. tropica* infection of the lip two groups of 10 Syrian hamsters each were i.c. or i.p. reinfected with the strain "Ve.". Eight of 10 animals each did not show parasites in the tissue of lip or testicle. The development of a local immunity may be considered.
7. Two groups of Syrian hamsters each were first injected i.p. with spleen suspension from *L. tropica* positive hamsters and then infected with *L. tropica* or *L. donovani*. Six weeks p.i. parasites were evident in the lip or in spleen and liver. Such animals which had received spleen suspensions repeatedly, survived the longest.
8. In the indirect fluorescent antibody test (IFAT) Syrian hamsters infected with *L. donovani* ("O.") showed titres of 1 : 32 already 2 weeks p.i. which rose up to 1 : 128 in the phase of agony (6 - 7 weeks p.i.).
In the 3rd week following experimental infection of the hamsters with *L. tropica* ("Ve.") titres of 1 : 32 were detected that increased up to 1 : 128 (8 weeks p.i.) and persisted until scarring of the ulcer (11 weeks p.i.). Contrary to man with a simple oriental sore the same parasites in Syrian hamsters could provoke a humoral immune response measurable in the IFAT.

VI. Literaturverzeichnis

- Abdalla, R.E. (1980): Serodiagnosis of visceral leishmaniasis in an endemic area of the Sudan. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 74, 415 - 419
- Abdalla, R.E. (1982): Parasites in Sudanese cutaneous and mucosal leishmaniasis. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 76, 299 - 307
- Adler, S., O. Theodor (1931): Investigations on Mediterranean Kala-azar. II. *Leishmania infantum*. *Proc. R. Soc. London Ser. B. Biol. Sci.* 108, 453 - 463
- Adler, S., A. Zuckerman (1948): Observations on a strain of *Leishmania tropica* after prolonged cultivation: Notes on infectivity and immunity. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 42, 178 - 183
- Adler, S. (1964): *Leishmania*. *Adv. Parasitol.* 2, 35 - 36
- Adler, S. (1965): Immunology of leishmaniasis. *Isr. J. Med. Sci.* 1, 9 - 13
- Agu W.E., J.P. Farrell, E.J.L. Soulsby (1981): Proliferative glomerulonephritis in experimental *Leishmania donovani* infection of the golden hamster. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 4, 353 - 368
- Alexander, J., R.S. Phillips (1980): *Leishmania mexicana* and *Leishmania tropica* major: Adoptive transfer of immunity in mice. *Exp. Parasitol.* 40, 34 - 40
- Behforouz, N., H.R. Rezai, S. Gettner (1976): Application of immunofluorescence to detection of antibody in *Leishmania* infections. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 70, 293 - 301
- Behin, R., J. Mavel, B. Sordat (1979): *Leishmania tropica*: Pathogenicity and in vitro macrophage function in strains of inbred mice. *Exp. Parasitol.* 48, 81 - 91
- Behin, R., J. Louis (1984): Immune response to *Leishmania*. In R.K. Chandra (ed.): *Crit. Rev. Trop. Med.* 2, 141 - 188
- Belehu, A., J.L. Turk (1976): Establishment of cutaneous *Leishmania enrietti* infections in hamsters. *Infect. Immun.* 13, 1235 - 1241
- Berman, J.D., F.A. Neva (1981): Effect of temperature on multiplication of *Leishmania amastigotes* within human monocyte-derived macrophages in vitro. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 30, 318 - 321

- Bjorvatn, B., F.A. Neva (1979): A model in mice for experimental leishmaniasis with a West African strain of *Leishmania tropica*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 28, 472 - 479
- Blackwell, J.M., J. Alexander (1983): The macrophage and parasitic protozoa. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 77, 636 - 645
- Blackwell, J.M., O.M. Ulczak (1984): Immunoregulation of genetically controlled acquired responses to *Leishmania donovani* infection in mice: demonstration and characterization of suppressor T cells in noncure mice. *Infect. Immun.* 44, 97 - 102
- Bradley, D.J. (1974): Genetic control of natural resistance to *Leishmania donovani*. *Nature* 250, 353 - 354
- Bradley, D.J. (1977): Regulation of *Leishmania* populations within the host. II. Genetic control of acute susceptibility of mice to *Leishmania donovani* infection. *Clin. Exp. Immunol.* 30, 130 - 140
- Bradley, D.J. (1982): Introduction and genetic of susceptibility to *Leishmania donovani*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 76, 143 - 146
- Bray, R.S., R. Lainson (1965): The immunology and serology of leishmaniasis. I. The fluorescent antibody staining technique. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 59, 535 - 544
- Bray, R.S. (1976): Immunodiagnosis of leishmaniasis. In: S. Cohen, E.W. Sadun (eds.): *Immunology of parasitic infections*. Blackwell Sci. Publ. Oxford, 65 - 76
- Bryceson, A.D.M., R.S. Bray, R. Wolstencroft, D.C. Dumonde (1970): Immunity in cutaneous leishmaniasis of the guinea-pig. *Clin. Exp. Immunol.* 7, 301 - 341
- Bryceson, A.D.M., J.L. Turk (1971): The effect of prolonged treatment with antilymphocyte serum on the course of infections with BCG and *Leishmania enrietti* in the guinea-pig. *J. Pathol.* 104, 153 - 165
- Bryceson, A.D.M., P.M. Preston, R.S. Bray, D.C. Dumonde (1972): Experimental cutaneous leishmaniasis. II. Effects of immunosuppression and antigenic competition on the course of infection with *Leishmania enrietti* in the guinea-pig. *Clin. Exp. Immunol.* 10, 305 - 335
- Buschmann, H.G. (1984): Stimulierung der Phagozytosefähigkeit. *Tierärztl. Umschau* 39, 208 - 214
- Cahill, K.M. (1964): Leishmaniasis in the Sudan. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 13, 794 - 798

- Campos-Neto, A., M.M. Bunn-Moreno (1982): Polyclonal B-cell activation in hamsters infected with parasites of the genus *Leishmania*. *Infect. Immun.* 38, 871 - 876
- Chang, K.P., J.W. Chiao (1981): Cellular immunity of mice to *Leishmania donovani* in vitro: Lymphokine-mediated killing of intracellular parasites in macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 7083 - 7087
- Cook, J.A., T.W. Holbrook, W.J. Dougherty (1982): Protective effect of glucan against visceral leishmaniasis in hamsters. *Infect. Immun.* 37, 1261 - 1269
- Corradetti, A. (1977): Essais de vaccination avec des formes amastigotes irradiées de *Leishmania donovani*. In: CNRS (ed.): *Ecologie des Leishmanioses*. INSERM Paris, 317
- Dobrzhanskaya, R.S. (1977): Bacterial flora accompanying experimental skin leishmaniasis in mice. *Med. Parazitol. Parazit. Bolezni* 46, 363 - 366. Ref.: *Protozool. Abstr.* 1, 894
- Dostrovsky, A. (1952): Isophasic reaction following experimental superinfection of *Leishmania tropica*. *Arch. Dermatol. Syph.* 66, 665 - 675
- Dwyer, D.M. (1976): Antibody-induced modulation of *Leishmania donovani* surface membrane antigens. *J. Immunol.* 117, 2081 - 2091
- Edrissian, G.H., P. Darabian, Z. Zovien, M.A. Zeyedi-Rashti, A. Nadim (1981): Application of the indirect fluorescent antibody test in the serodiagnosis of cutaneous and visceral leishmaniasis in Iran. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 75, 19 - 24
- Farrell, J.P. (1976): *Leishmania donovani*: Acquired resistance to visceral leishmaniasis in the golden hamster. *Exp. Parasitol.* 40, 89 - 94
- Frenkel, J.K. (1972): Infection and immunity in hamsters. *Prog. Exp. Tumor Res.* 16, 326 - 367
- Fulton, J.D., L.P. Joyner, R.L. Chandler, (1950): Studies on Protozoa. II. The golden hamster (*Cricetus auratus*) and cotton rat (*Sigmodon hispidus*) as experimental hosts for *Leishmania donovani*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 44, 105 - 112
- Gardener, P.J., M.L. Chance, W. Peters (1974): Biochemical taxonomy of *Leishmania*. II. Electrophoretic variation of malate dehydrogenase. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 68, 317 - 325

- Gardener, P.J., L. Shchory, M.L. Chance (1977): Species differentiation in the genus *Leishmania* by morphometric studies with the electron microscope. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 71, 147 - 155
- Garnham, P.C.C. (1971): The Genus *Leishmania*. *Bull. WHO* 44, 477 - 489
- Gellhorn, A., H.B. van Dyke, W.J. Pyles, N.A. Tupikova (1946): Amyloidosis in hamsters with leishmaniasis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 61, 25 - 30
- Glazunova, Z.I. (1968): Experimental infection with *Leishmania tropica* major in golden hamsters. *Med. Parazit. Parazit. Bolezni* 37, 65 - 69. Ref.: *Trop. Dis. Bull.* 65, 873
- Gonder, R. (1913): Experimentelle Übertragung der Orientbeule auf Mäuse. *Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.* 17, 397 - 403
- Gorczynski, R.M (1982): Nature of resistance to leishmaniasis in experimental rodents. *Dev. Comp. Immunol.* 6, 199 - 209
- Haidaris, C.G., P.F. Bonventre (1981): Elimination of *Leishmania donovani* amastigotes by activated macrophages. *Infect. Immun.* 33, 918 - 926
- Halpern, N.B., A. Pacaud (1951): Technique de prélèvement d'échantillon de sang chez les petits animaux de laboratoire par ponction du plexus ophthalmique. *C.R. Séances Soc. Biol. Ses Fil.* 145, 1465
- Handman, E., R. Ceredig, G.F. Mitchell (1979): Murine cutaneous leishmaniasis: Disease patterns in intact and nude mice of various genotypes and examination of some differences between normal and infected macrophages. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 57, 9 - 30
- Hayatee, Z.G. (1970): Effect of environmental temperature on cutaneous leishmaniasis diffusa in mice. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 64, 17
- Herrer, A., H.A. Christensen, R.J. Beumer (1971): Use of sentinel animals in epidemiological studies of cutaneous leishmaniasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 65, 538 - 539
- Herrer, A. (1983): Use of golden hamster as sentry in endemic areas of *Uta* (cutaneous leishmaniasis). *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 24, 162 - 167. Ref.: *Trop. Dis. Bull.* 80, 545 - 546
- Heyneman, D. (1971): Immunology of leishmaniasis. *Bull. WHO* 44, 499 - 514

- Hommel, M., W. Peters, J. Ranque, M. Quilici, G. Lanotte (1978): The genus *Leishmania*: Biology of the parasites and clinical aspects. Bull. Inst. Pasteur 76, 5 - 102
- Hoover, D.L., M. Berger, C.A. Nacy, W.T. Hockmeyer, M.S. Meltzer (1984): Killing of *Leishmania tropica* amastigotes by factors in normal human serum. J. Immunol. 132, 893 - 897
- Howard, J.G., C. Hale, F.Y. Liew (1982): Genetically determined response mechanism to cutaneous leishmaniasis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 76, 152 - 154
- Keithly, J.S. (1976): Infectivity of *Leishmania donovani* amastigotes and promastigotes for golden hamsters. J. Protozool. 23, 244 - 245
- Kellina, O.I. (1967): Studies on immunity in cutaneous leishmaniasis. II. Local allergic reactions and survival of *Leishmania* in the skin after inoculation of *Leishmania tropica* major culture to immune persons. Med. Parasitol. Parazit. Bolezni 35, 679 - 686. Ref.: Trop. Dis. Bull. 64, 361
- Kirk, R. (1950): Experimental differentiation of *Leishmania*. Parasitology 40, 58 - 59
- Krampitz, H.E., B. Weber, K. Scheffer (1977): Zum Verhalten von Leishmanien aus Hautulcera des Menschen in kleinen Labortieren. Acta Trop. 34, 293 - 311
- Krampitz, H.E. (1979): Neuere Erkenntnisse über die geographische Verbreitung der Leishmaniasen in der alten Welt. In: H.J. Jusatz (ed.): Geomedizin in Forschung und Lehre. Steiner Verlag, Wiesbaden
- Krampitz, H.E., G. Weiland, T. Löscher, L. Prüfer (1981): Evaluation of antigens for the serodiagnosis of kala-azar and oriental sores by means of the indirect immunofluorescence antibody test (IFAT). Infection 9, 264 - 267
- Krampitz, H.E. (1983): Sinn, Technik und Aussage von Tierexperimenten bei der Identifizierung von *Leishmania*-Infektionen des Menschen. Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 5, 7 - 12
- Krause, L. (1976): *Leishmania donovani* in kleinen Nagetieren. Med. Diss., München
- Kretschmar, W. (1965): Immunität bei der *Leishmania enriettii*-Infektion des Meerschweinchens. Z. Tropenmed. Parasitol. 16, 277 - 283

- Lanotte, G., J.-A. Rioux, R. Maazoun, N. Pasteur, F. Pratlong, J. Leport (1981): Application de la méthode numérique à la taxonomie du genre *Leishmania* Ross, 1903. A propos de 146 souches originaires de l'Ancien Monde. Utilisation des allozymes. Corollaires épidémiologiques et phylétiques. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 56, 575 - 591
- Laveran, A. (1914): Infections expérimentales de souris d'un mérinos d'un rat et d'un macaque par la *Leishmania tropica*. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 7, 663 - 670
- Laveran, A. (1915): Nouvelle contribution à l'étude des infections expérimentales de la souris par la *Leishmania tropica*. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 8, 680 - 686
- Leclerc, C., F. Modabber, E. Deriaud, L. Cheddidi (1981): Systemic infection of *Leishmania tropica* (major) in various strains of mice. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 75, 851 - 854
- Louis, J.A., R.H. Zubler, S.G. Coutinho, G. Lima, R. Behin, J. Mauel, H.D. Engers (1982): The in vitro generation and functional analysis of murine T-cell populations and clones specific for a protozoan parasite, *Leishmania tropica*. *Immunol. Rev.* 61, 215 - 243
- Lumsden, W.H.R. (1974): Biochemical taxonomy of *Leishmania*. *Trans. Soc. Trop. Med. Hyg.* 68, 74 - 75
- Maekelt, G.A. (1972): Immune response to intracellular parasites. I. *Leishmania*. In: E.J. Soulsby (ed.): *Immunity to animal parasites*. Acad. Press New York a. London, 343 - 363
- Manson-Bahr, P.E.C. (1961): Immunity in kala-azar. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 55, 550 - 555
- Manson-Bahr, P.E.C. (1973): The problems of post-kala-azar dermal leishmanoid. *Abstr. 9. Int. Congr. Trop. Med. Athen 1973*, I/135
- Mauel, J., R. Behin (1974): Cell-mediated and humoral immunity to protozoan infections. *Transplant. Rev.* 19, 121 - 146
- Mauel, J., R. Behin (1982): Immunology of parasitic infections. In: S.Cohen, K.S. Warren (eds.): *Leishmaniasis: Immunity, immunopathology and immunodiagnosis*. Blackwell Sci. Publ. Oxford, 299 - 355
- Mauel, J. (1984): Mechanisms of survival of protozoan parasites in mononuclear phagocytes. *Parasitology* 88, 579 - 592
- Mayer, M. (1926): Empfänglichkeit des europäischen Hamsters (*Cricetus frumentarius*) für Kala-azar. *Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.* 30, 347 - 348

- Mayer, M., E. Laas, C. Sonnenschein (1934): Über generalisierte Infektionen mit *Leishmania tropica* (Orientbeule) bei weißen Mäusen. Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. 38, 16 - 28
- Mehlhorn, H., M. Nothen, H.E. Krampitz (1984): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an verschiedenen Stämmen von *Leishmania donovani* und *L. tropica*. Proc. 3. Jahrestagung Deutsche Gesellschaft für Protozoologie, Bonn
- Mitchell, G.F., J.M. Curtis, E. Handman, J.F.C. Mackenzie (1980): Cutaneous leishmaniasis in mice: Disease pattern in reconstituted nude mice of several genotypes infected with *Leishmania tropica*. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 58, 521 - 532
- Moriearty, P.L., G. Grimaldi, B. Galvao-Castro, M.P. Oliveira Neto, M.C.A. Marzochi (1982): Intralesional plasma cells and serologic responses in human cutaneous leishmaniasis. Clin. Exp. Immunol. 47, 59 - 64
- Müller-Peddinghaus, R. (1983): Das Komplementsystem als Vermittler der akuten Entzündung. Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. 90, 374 - 377
- Nasseri, M., F.Z. Modabber (1979): Generalized infection and lack of delayed hypersensitivity in Balb/c mice infected with *Leishmania tropica* major. Infect. Immun. 26, 611 - 614
- Ott, K.J., W.L. Hanson, L.A. Stauber (1967): Course of infection of *Leishmania donovani* in hamsters inoculated by the intraperitoneal route. J. Parasitol. 53, 641 - 645
- Packchanian, A. (1979): Experimental cutaneous leishmaniasis with *L. tropica* in albino hairless mice, *Mus musculus*. Trans. Soc. Trop. Med. Hyg. 73, 31 - 36
- Pappas, M.G., P.B. McGreevy, R. Haikowski, L.D. Hendricks, C.N. Oster, W.T. Hockmeyer (1983): Evaluation of promastigote and amastigote antigens in the indirect fluorescent antibody test for American cutaneous leishmaniasis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 32, 1260 - 1267
- Parrot, L., A. Donatien (1927): Leishmaniose cutanée primitive expérimentale de la souris blanche. C.R. Séances Soc. Biol. Ses Fil. 96, 448 - 449
- Pearson, R.D., R.T. Steigbigel (1980): Mechanism of lethal effect of human serum upon *Leishmania donovani*. J. Immunol. 125, 2195 - 2201
- Peters, W. (1977): The diagnosis and treatment of leishmaniasis. Tropenmed. Parasitol. 28, 271 - 272

- Piekarski, G., M. Saathoff, M.H. Nouri-Nekoui (1973): Untersuchung zum Nachweis von Leishmanien-Antikörpern bei Kala-Azar-Patienten und experimentell mit *L. donovani* infizierten Tieren. *Z. Tropenmed. Parasitol.* 24, 161 - 173
- Poulter, L.W. (1979): The kinetics of development and quality of resistance in self-healing and metastatic leishmaniasis. *Clin. Exp. Immunol.* 36, 30 - 37
- Poulter, L.W. (1980): Mechanisms of immunity to leishmaniasis. I. Evidence for a changing basis of protection in self-limiting disease. *Clin. Exp. Immunol.* 39, 14 - 26
- Preston, P.M., R.L. Carter, E. Leuchars, A.J.S. Davies, D.C. Dumonde (1972): Experimental cutaneous leishmaniasis. III. Effects of thymectomy on the course of infection of CBA mice with *Leishmania tropica*. *Clin. Exp. Immunol.* 10, 337 - 357
- Preston, P.M., D.C. Dumonde (1976): Experimental cutaneous leishmaniasis. IV. Protective immunity in subclinical and self-healing infection in the mouse. *Clin. Exp. Immunol.* 23, 126 - 138
- Rezai, H.R., S. Gettner, N. Behforouz (1972): Anti-leishmanial activity of immune guinea-pig serum. *J. Med. Microbiol.* 5, 371 - 375
- Rezai, H.R., S. Ardehali, S. Gettner (1973): Anti-leishmania activity of normal animal sera. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 69, 29 - 33
- Rezai, H.R., J. Farrell, E.L. Soulsby (1980): Immunological responses of *L. donovani* infection in mice and significance of T cell in resistance to experimental leishmaniasis. *Clin. Exp. Immunol.* 40, 508 - 514
- Rickman, R., J. Robson (1970): The blood incubation infectivity test: A simple test which may serve to distinguish *Trypanosoma brucei* from *T. rhodesiense*. *Bull. WHO* 42, 650 - 651
- Rolle, M., A. Mayr (1978): Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre für Tierärzte, Biologen und Agrarwissenschaftler. 4. Aufl. Enke-Verlag Stuttgart, 38 - 78
- Row, R. (1914): Experimental leishmaniasis in the monkey and the mouse induced by the parasites in culture. *Indian J. Med. Res.* 1, 617 - 621
- Row, R. (1925): On some pathological observations in experimental leishmaniasis in mice with special reference to generalized infections set up by *Leishmania tropica*. *Indian J. Med. Res.* 12, 435 - 438

- Ruebush, M.J., W.L. Hanson (1980): Transfer of immunity to *Babesia microti* of human origin using T-lymphocytes in mice. *Cell. Immunol.* 52, 255 - 265
- Saf'Yanova, V.M. (1977): On species criteria in *Leishmania*. *Abstr. V. Int. Congr. Protozool. New York*, No. 263
- Scheffer, K. (1980): Die experimentelle Hautleishmaniose der haarlosen Maus. *Med. Diss., München*.
- Schmunis, G.A., R. Herman (1970): Characteristics of so-called natural antibodies in virious normal sera against culture form of *Leishmania*. *J. Parasitol.* 56, 889 - 896
- Schnur, L., A. Zuckerman, B. Montilio (1973): Dissemination of *Leishmanias* on the organs of Syrian hamsters following intrasplenic inoculation of promastigotes. *Exp. Parasitol.* 34, 432 - 447
- Schnur, L.F. (1976): Preliminary report on an attempt to vaccinate Syrian hamsters against leishmaniasis using a live vaccine at low concentration. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 70, 371 - 373
- Schnur, L.F., M.L. Chance, F. Ebert, S.C. Thomas, W. Peters (1981): The biochemical and serological taxonomy of visceralizing *Leishmania*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 75, 131 - 144
- Schüle, D., G. Lüders, J. Braun (1974): Gentamycin in der Therapie der cutanen Leishmaniose. *Z. Hautkr.* 49, 951 - 961
- Semprevivo, L.H., J.N. Yusuf, B.M. Honigberg (1981): Changes in growth rate and infectivity of *Leishmania donovani* subjected to various laboratory procedures. *Z. Parasitenkd.* 65, 43 - 51
- Sergent, E. (1915): Infections expérimentales de la souris par des cultures de la *Leishmania tropica*. *Bull. Soc. Path. Exot.* 8, 22 - 25
- Smyly, H.J., C.W. Young (1924): Experimental kala-azar in a hamster (*Cricetulus griseus*). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 21, 357 - 359
- Sonnenburg F.F. v., H.E. Krampitz, T. Löschner, L. Prüfer, G. Weiland (1979): Zur Diagnose eingeschleppter viszeraler Leishmaniosen (Kala-Azar). *Münch. Med. Wochenschr.* 121, 1353 - 1356
- Soulsby, E.J.L. (1970): Cell-mediated immunity in parasitic infections. *Tech. Rev. Proc. II. Int. Congr. Parasitol. Washington 1970*, 534

- Stauber, L.A. (1955): Leishmaniasis in the hamster. In: W.H. Cole (ed.): Some physiological aspects and consequences of parasitism. Rutgers University Press New Brunswick, 76 - 90
- Stauber, L.A. (1958 a): Chemotherapy of experimental leishmaniasis. Proc. 6. Int. Congr. Trop. Med. 3, 5 - 13
- Stauber, L.A. (1958 b): Host resistance to the Khartoum strain of *Leishmania donovani*. Rice Inst. Pamph. 45, 80 - 96
- Stauber, L.A. (1963): Immunity to *Leishmania*. Ann. N.Y. Acad. Sci. 113, 409 - 417
- Stauber, L.A. (1966): The origin and significance of the distribution of parasites in visceral leishmaniasis. Trans. N. Y. Acad. Sci. 28, 635 - 643
- Stauber, L.A. (1973): Leishmaniasis: The progress of the infection in experimental animals. Abstr. 9. Int. Congr. Trop. Med. Athen, I/138
- Taub, J. (1956): The effect of normal human serum on *Leishmania*. Bull. Res. Council. Israel 6 E, 55 - 57
- Tizard, J.R. (1981): Einführung in die veterinärmedizinische Immunologie für Tiermediziner, Biologen und Agrarwissenschaftler. Bearb. u. Übers. von H.G. Buschmann. Berlin, Hamburg: Parey, 332 - 346
- Ulrich, M., D.T. Ortiz, J. Convit (1968): The effect of fresh serum on the leptomonads of *Leishmania*. I. Preliminary report. Trans. Soc. Trop. Med. Hyg. 62, 628 - 630
- Veress, B., R.E. Abdalla, A.M. El Hassan (1980): Electron microscope investigations on leishmaniasis in the Sudan: I. Morphometric studies on *Leishmania amastigotes* in various forms of human leishmaniasis. Ann. Trop. Med. Parasitol. 74, 421 - 426
- Veress, B., R.E. Abdalla, A.M. El Hassan (1983): Visceral spreading depletion of thymus-dependent regions and amyloidosis in mice and hamsters infected intradermally with *Leishmania* isolated from Sudanese cutaneous leishmaniasis. Br. J. Exp. Pathol. 64, 505 - 514
- Weber, B. (1977): Das Verhalten von Leishmanien aus Hautulcera des Menschen im Tierversuch. Vet. med. Diss., München
- Weintraub, J., F.I. Weinbaum (1977): The effect of BCG on experimental cutaneous leishmaniasis in mice. J. Immunol. 118, 2288 - 2290

- Wilson, H.R., B.S. Diekmann, G.E. Childs (1979): *Leishmania braziliensis* and *Leishmania mexicana*: Experimental cutaneous infection in golden hamsters. *Exp. Parasitol.* 47, 270 - 283
- World Health Organisation (1982): Report of the informal meeting on the chemotherapy of visceral leishmaniasis. TDR/Che-mileish/VL/82.3
- World Health Organisation (1983): Report of the workshop on chemotherapy of Old World cutaneous leishmaniasis. TDR/Leish/CL-Jer/83.3
- Zivkovic, D., W. Seinen, H. Kuil, C.M.G. Albers-van Bommel, J.E. Speksnijder (1984): Immunity to *Babesia* in mice, I. Adoptive transfer of immunity to *Babesia rodhaini* with immune spleen cells and the effect of irradiation on the protection of immune mice. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 5, 343 - 357
- Zuckerman, A. (1975): Current status of the immunology of blood and tissue protozoa. I. *Leishmania*. *Exp. Parasitol.* 38, 370 - 400

Es ist mir ein besonderes Anliegen, Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch, ehemaligem Vorstand des Instituts für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der Universität München, und Herrn Prof. Dr. med. H. E. Krampitz für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung während meiner Arbeit zu danken.

Mein Dank gilt besonders Frau W. Krampitz für ihre liebenswerte Hilfe bei den experimentellen Untersuchungen.

Herzlich danke ich Frau Dr. med. vet. Ingrid Reiter für ihre wertvollen Anregungen und Diskussionsbeiträge.

Schließlich möchte ich mich bei Herrn Dr. med. vet. A. Pospischil aus dem Institut für Tierpathologie (Vorstand: Prof. Dr. J. v. Sandersleben) für die fachgerechte Beurteilung der histologischen Schnitte bedanken.

Lebenslauf

Am 10. Januar 1957 wurde ich als Tochter von Liese Ackermann, geb. Geyer, und von Fritz Ackermann, Fabrikdirektor i.R., in Heilbronn a/N geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule Heilbronn-Sontheim und des humanistischen Theodor-Heuß-Gymnasiums Heilbronn legte ich am 18. Mai 1976 das Abitur ab.

Im Wintersemester desselben Jahres begann ich mit dem Studium der Pharmazie an der Karl-Rupprecht-Universität Heidelberg.

Ab dem Wintersemester 1978/79 studierte ich an der Tierärztlichen Fakultät München Veterinärmedizin und bestand dort am 21. März 1984 die Tierärztliche Prüfung. Die Approbation als Tierärztin erhielt ich am 12. April 1984. Seitdem bin ich am Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München mit der Anfertigung der Dissertation beschäftigt.

